



**Renato José Braz
Mamede**

**Mapeamento de vegetação submersa através de
acústica de feixe simples**



**Renato José Braz
Mamede**

**Mapeamento de vegetação submersa através de
acústica de feixe simples**

dissertação apresentada à Universidade de Aveiro para cumprimento dos requisitos necessários à obtenção do grau de Mestre em Biologia Marinha, realizada sob a orientação científica do Doutor Victor Quintino, Professor auxiliar do Departamento de Biologia da Universidade de Aveiro e co-orientação da Doutora Rosa Freitas, investigadora auxiliar do Centro de Estudos do Ambiente e do Mar.

Dedico este trabalho à minha família pelo apoio e felicidade que me transmitem.

o júri

presidente

Prof^a. Dr^a. Maria Ângela Sousa Dias Alves Cunha
Professora auxiliar do Departamento de Biologia da Universidade de Aveiro

Prof. Dr. Victor Manuel dos Santos Quintino
Professor auxiliar do Departamento de Biologia da Universidade de Aveiro

Dr^a. Rosa de Fátima Lopes de Freitas
Investigadora auxiliar do Centro de Estudos do Ambiente e do Mar

Prof. Dr. Sérgio Miguel Franco Martins Leandro
Professor assistente da Escola Superior de Turismo e Tecnologia do Mar de Peniche. Pólo do Instituto Politécnico de Leiria

agradecimentos

Ao meu orientador, Professor Doutor Victor Quintino, pela oportunidade de realização deste trabalho e pelo apoio e disponibilidade demonstrados.

À minha co-orientadora, Doutora Rosa Freitas, pelos conhecimentos científicos transmitidos na área da acústica.

À Professora Doutora Ana Rodrigues pelo apoio e transmissão de conhecimentos ao longo deste trabalho.

Ao meu colega e amigo, Fernando Ricardo, pelo companheirismo e participação na parte prática deste estudo.

Ao sr. Rui Marques, técnico do Departamento de Biologia, pela sempre presente boa disposição e auxílio na vertente prática deste estudo.

A todo o pessoal do laboratório, nomeadamente, Adília, Leandro, Fernando, Marta, Patrícia, Puri e Roberto pela solidariedade e boa disposição demonstradas.

Ao programa “Acções Integradas Luso-Espanholas” através do projecto “ACOFAN: shallow water acoustic mapping of seagrass meadows and other benthic biotopes” e à FCT através do projecto “ACOSHELF: Coastal shelf ecosystems studies using acoustics” pelo apoio financeiro que permitiu a realização deste trabalho.

palavras-chave

Acústica de feixe simples, cobertura algal, QTC VIEW, granulometria sedimentar, detecção remota de habitats

resumo

Este estudo foi realizado no Mar Menor (Espanha), lagoa costeira mediterrânica de águas pouco profundas. Desde a década de 1970, que a macroalga *Caulerpa prolifera* tem vindo a expandir-se por todo o Mar Menor à custa da erva marinha *Cymodocea nodosa*, ocupando actualmente a maior parte desta bacia hidrográfica. A fixação desta macroalga teve como consequência o envasamento dos sedimentos devido à retenção de partículas finas no sistema rizoidal. Foi utilizado um sistema de discriminação de fundos (QTC VIEW série V) ligado a uma sonda de feixe simples com dupla frequência (50 e 200 kHz), com o objectivo de distinguir entre fundos com diferentes densidades da macroalga *Caulerpa prolifera*, caracterizados por diferentes tipos sedimentares. Para isto foram postas à prova duas hipóteses nulas, utilizando a análise permutacional multivariável de variância (PERMANOVA). As hipóteses testadas foram: H_{01} : não existem diferenças acústicas entre áreas arenosas e vasosas sem cobertura vegetal; H_{02} : não existem diferenças acústicas significativas entre áreas com baixa, média e elevada biomassa algal.

Os testes efectuados provaram que efectivamente, ambas as frequências estão aptas para a discriminação sedimentar e que, principalmente os 200 kHz são sensíveis à presença da macroalga.

keywords

Single-beam acoustics, algal cover, QTC VIEW, sediment types, habitat remote sensing.

abstract

This study was conducted in Mar Menor (Spain), a mediterranean coastal shallow water lagoon. A single-beam Acoustic Ground Discrimination System (AGDS), QTC VIEW, series V, was used, connected to a dual frequency echosounder (50 and 200 kHz), with the aim of distinguish between bottoms with different densities of the macroalgae *Caulerpa prolifera* and caracerized by different sediment types. Since the 1970's, that *C. prolifera* was expanding for all Mar Menor to expense of seagrass *Cymodocea nodosa*, and actually it occupies the major part of this hydrographic basin. The fixation of this macroalgae, was as consequence, the silting up of the superficial sediments, due to the retention of sediment fine particules. For this two null hypothesis were tested, using a permutacional multivariate analysis of variance (PERMANOVA). The null hypothesis tested were: H_01 : no significant acoustic differences exist between bare sandy and muddy bottom areas; H_02 : no significant acoustic differences exist among low, medium and high algal biomass areas.

The tests effectuated prove that both frequencies are able to discriminate different sediment types and that, principally, the 200 kHz are sensible to the presence of the macroalgae.

Índice

1 Introdução	5
1.1 Estudo de habitats bentónicos	5
1.2 Métodos acústicos.....	8
1.3 Objectivo	11
2 Material e métodos.....	12
2.1 Amostragem	12
2.1.1 Local de Estudo.....	12
2.1.2 Amostragem acústica	14
2.1.3 Amostragem de sedimentos e algas	18
2.2 Análise laboratorial.....	19
2.2.1 Granulometria sedimentar	19
2.2.2 Biomassa algal	20
2.3 Análise de dados	21
2.3.1 Dados acústicos	21
2.3.2 Granulometria sedimentar	23
2.3.3 Correlação entre o conteúdo em finos e a biomassa algal.....	24
2.3.4 Desenho experimental.....	24
2.3.5 Correlação entre os dados acústicos e as covariáveis usadas nos desenhos experimentais.....	27
3 Resultados	28
3.1 Granulometria sedimentar e biomassa algal	28
3.2 Correlação entre o conteúdo em finos e a biomassa algal.....	30
3.3 Desenho experimental.....	30
3.4 Correlação entre os dados acústicos e as covariáveis usadas nos desenhos experimentais	37
4 Discussão.....	39
5 Bibliografia.....	42
Anexo I – Tabela de granulometria de todos os replicados.....	48
Anexo II – Tabela de biomassa algal de todos os replicados.....	49
Anexo III – Artigo onde estão publicados os resultados apresentados nesta dissertação	50

Índice de figuras

Figura 1 - Esquema da <i>Caulerpa prolifera</i> (adaptado de www.reefkeeping.com)	5
Figura 2 - Fundo coberto por <i>C. prolifera</i> .	6
Figura 3 - Fundos marinhos hipotéticos com respectivas formas dos ecos (adaptado de QTC IMPACT, 2004).	10
Figura 4 - Mar Menor, mostrando a localização de La Puntica (LP) e Molino de la Calcetera (MC).	12
Figura 5 - Embarcação usada neste estudo.	14
Figura 6 - Circuitos acústicos (pontos a cinzento) efectuados em todas as áreas de estudo (LP, LMA e LMB) para as duas frequências, 50 e 200 kHz. Os quadrados e rectângulos correspondem às áreas de amostragem acústicas seleccionadas, de granulometria e de biomassa algal. As zonas a verde representam fundo coberto por macroalgas.	16
Figura 7 - Bóias delimitando o circuito efectuado pelo barco na área de La Puntica.	17
Figura 8 - Mergulhadores preparando-se para a recolha de amostras.	19
Figura 9 - Lavagem e separação do sedimento das macroalgas.	20
Figura 10 - Ilustração das tabelas obtidas depois da exportação do ficheiro CSV, nomeadamente, com os pontos de um replicado de um local de amostragem com as 166 variáveis, posição e profundidade (esquerda) e de um local de amostragem com as 166 variáveis.	23
Figura 11 - Relação entre o conteúdo em finos do sedimento (percentagem do peso seco no total do sedimento) e biomassa algal (peso seco livre de cinzas)	30
Figura 12 - Diagramas de ordenação (NMDS) dos dados sedimentares e acústicos (50m e 200 kHz) para 2 (LP e MCB) e 3 áreas de estudo (LP, MCA e MCB) relativos aos locais de amostragem sem cobertura macroalgal.	31
Figura 13 - Diagramas de ordenação (NMDS) dos dados sedimentares e acústicos (50m e 200 kHz) para 3 níveis de biomassa algal – conteúdo em finos relativos aos locais de amostragem com cobertura algal. Os três níveis correspondem às três áreas de estudo: elevado=LP, Médio=MCB e baixo= MCA.	36

Figura 14 - Relação entre o resultado do 1º eixo de uma PCA por local dos dados acústicos (50 e 200 kHz) e as covariáveis usadas no desenho experimental (biomassa algal, conteúdo em finos, biomassa – conteúdo em finos e granulometria).; r – coeficiente de correlação. 38

Índice de tabelas

Tabela 1 - Características base de amostragem para a eco-sonda (Hondex 7300II) e QTC VIEW Series V, para ambas as frequências. CGA= Controle de ganho automático.....	15
Tabela 2 - Classificação sedimentar , adaptada de Wenworth (Doeglas, 1968) e de Larssoneur 1977.	24
Tabela 3 - Granulometria sedimentar, expressa em percentagem do peso total do sedimento, mediana em unidades phi (Φ), biomassa algal, expressa em peso das cinzas (g) e classificação sedimentar. Os valores por local correspondem à média dos 4 replicados.	29
Tabela 4 - Resultados da PERMANOVA para o teste da H01, para ambas as frequências (50 e 200 kHz). gl - graus de liberdade; SQ - soma dos quadrados; MS - média dos quadrados; Se - tipos sedimentares; Ar(Se) - áreas aninhadas nos tipos sedimentares; Lo (Se) – locais aninhados no tipos sedimentares; LO(Ar(Se)) – locais aninhados nas áreas e nos tipos sedimentares; Re – resíduos; Cov – covariável; n.s. não significativo.....	32
Tabela 5 - Resultados da PERMANOVA para os testes da H02, para as variáveis ambientais: teste global e comparações à posteriori duas a duas. gl - graus de liberdade; SQ - soma dos quadrados; MS - média dos quadrados. Ar(Se) - áreas aninhadas nos tipos sedimentares; Lo (Ar) – locais aninhados nas áreas; Re – resíduos; n.s. – não significativo.	33
Tabela 6 - Resultados da PERMANOVA para a H02, para os 200 kHz e para os 3 níveis de biomassa/conteúdo em finos; gl - graus de liberdade; SQ - soma dos quadrados; MS - média dos quadrados. Ar(Se) - áreas aninhadas nos tipos sedimentares; Lo (Ar) - locais aninhados nas áreas; Re – resíduos; n.s. – não significativo.....	34
Tabela 7 - Resultados da PERMANOVA para a H02, para ambas as frequências (50 e 200 kHz), para 2 níveis de biomassa/conteúdo em finos (Elevado e Baixo); gl - graus de liberdade; SQ - soma dos quadrados; MS - média dos quadrados Ar(Se) - áreas aninhadas nos tipos sedimentares; Lo (Ar) – locais aninhados nas áreas; Re – resíduos; n.s.- não significativo.....	36

1 Introdução

1.1 Estudo de habitats bentónicos

As macrófitas bentónicas incluem as macroalgas sésseis e as ervas marinhas (plantas marinhas com raiz), podendo formar grandes aglomerações nas zonas costeiras. Estes organismos funcionam como uma importante estrutura bentónica que contribui de diversas formas para o ecossistema, designadamente, como habitat para diversas espécies (entre outros, Whithfield, 1989; Irlandi, et al., 1999; Boström et al., 2006), sendo inclusivamente usadas como indicadores de qualidade ecológica (entre outros, Austoni et al., 2006; Schories et al., 2009; García et al., 2009). No entanto a disseminação de certas macroalgas sésseis, como por exemplo a espécie *Caulerpa prolifera* (fig.1 e 2) pode levar à alteração da comunidade e biomassa de peixes que estavam associados a algas anteriormente existentes nas áreas ocupadas (*Cymodocea nodosa*) (Pérez-Ruzafa et al., 1991; 2006). As macroalgas do género *Caulerpa* têm vindo a ser descritas como fortes competidoras pela ocupação do espaço com ervas marinhas (Taplin et al., 2005; Stafford e Bell, 2005), apresentando grande potencial invasor e de posterior expansão (Vaugelas et al., 1998; Ruitton et al., 2005). A estrutura das macroalgas deste género, tal como se pode verificar na figura 1, é definida por um talo composto por um estolho horizontal ancorado num sistema rizoidal e por frondes erectos.

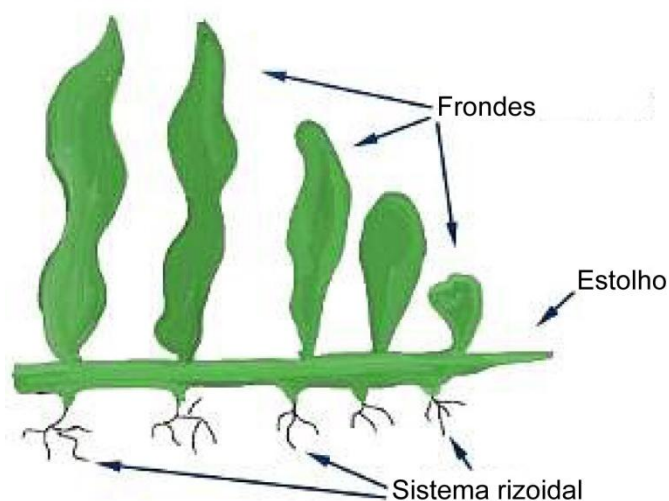


Figura 1 - Esquema da *Caulerpa prolifera* (adaptado de www.reefkeeping.com).



Figura 2 - Fundo coberto por *C. prolifera*.

Tendo em conta a sua ampla distribuição e os seus benefícios para o ecossistema é de extrema importância o desenvolvimento de metodologias que permitam o mapeamento das macrófitas bentónicas em grande escala. Normalmente, os estudos de habitats bentónicos são realizados através de metodologias tradicionais, incluindo a recolha de amostras sedimentares (entre outros, Prohić e Huračić, 1989) para posteriores análises dos parâmetros físico-químicos (p.e. granulometria), seguindo-se a caracterização da macrofauna bentónica. Podem também ser realizadas recolhas de vegetação bentónica (entre outros, Schories et al., 2009; Juanes et al., 2008) com o objectivo de estimativa de biomassa e distribuição vegetal. As amostras sedimentares, podem ser obtidas utilizando dragas ou cores, ao invés, no caso da recolha de vegetação submersa o método mais utilizado é a recolha directa por mergulhadores. Estes métodos tradicionais requerem um grande esforço de amostragem, produzindo resultados bastante fiáveis, embora não compreendam áreas muito vastas, quando comparadas com aquelas que podem ser abrangidas por métodos de detecção remota. Hoje em dia, estes métodos têm vindo a ser cada vez mais utilizados, em detrimento das metodologias tradicionais. Nos métodos de detecção remota estão incluídos os métodos visuais e os acústicos, assim definidos de acordo com os aparelhos usados, necessitando, em ambos os casos, de validação através de recolhas sedimentares ou de vegetação.

No caso dos métodos visuais podem ser utilizadas a fotografia aérea ou a imagem por satélite. Estes podem ser utilizados no mapeamento de habitats

aquáticos e terrestres (Zharikov et al., 2005; Frohn et al., 2005). A fotografia aérea pode ser usada para mapear vegetação subaquática, mas não consegue fazer distinção entre espécies. Os satélites de grande resolução ou as plataformas aéreas (p.e. IKONOS, CASI, LANDSAT ou Quickbird) demonstraram ser metodologias eficientes no mapeamento de diferentes biótopos marinhos em zonas costeiras de pouca profundidade, como é o caso do mapeamento de macroalgas (Dekker *et al.*, 2005; Gullström, 2006; Phinn *et al.*, 2008;) e de recifes de coral (Riegl e Purkis, 2005). A grande limitação destes métodos é a sua ineficiência em águas profundas, ou então em águas com um grande coeficiente de atenuação óptica, como é o caso da maior parte das lagoas costeiras.

Relativamente aos métodos acústicos, pode-se dizer que são pouco ou nada influenciados pela profundidade e turbidez da água (Riegl e Purkis, 2005), tornando-se especialmente interessantes no mapeamento de biótopos bentónicos, nomeadamente, vegetação submersa.

Os sistemas acústicos de discriminação de fundos baseados em ecosondas de feixe simples têm sido utilizados no mapeamento de biótopos bentónicos. Diversos autores utilizaram o sistema acústico utilizado neste estudo, QTC VIEW, na caracterização de fundos com diferentes tipos sedimentares (Freitas *et al.*, 2003), no estudo de biótopos caracterizados por corais (Moyer *et al.*, 2005; Riegl e Purkis, 2005; Gleason, 2009) e vegetação aquática (Riegl *et al.*, 2005; Preston *et al.*, 2006). Num dos estudos efectuados em áreas com biótopos caracterizados por corais (Riegl e Purkis, 2005), no qual se utilizaram frequências iguais às deste estudo (50 e 200 kHz), os resultados foram elucidativos das diferentes capacidades de classificação destas duas frequências. No caso dos dados acústicos relativos aos 50 kHz, estes permitiram a distinção entre zonas de areias móveis e zonas de substrato duro, por sua vez, com a utilização dos 200 kHz foi alcançada a distinção entre zonas com diferentes rugosidades (corais e ondulações na areia de substrato plano), mas não entre zonas de substrato móvel e consolidado. Preston *et al.*, (2006) num trabalho onde foi utilizada uma sonda com apenas a frequência de 200 kHz, demonstrou a capacidade do QTC VIEW Série V na discriminação entre fundos cobertos por duas ervas marinhas (*Sargassum fulvellum* e *Ecklonia kurome*) e fundos não cobertos por

vegetação. Noutro trabalho realizado na Florida (EUA) por Riegl *et al.*, (2005), tanto em amostragens acústicas de campo como em ambiente controlado, foi possível efectuar a distinção entre fundos cobertos com ervas marinhas e fundos com diferentes densidades de cobertura macroalgal (pouco e muito densa). Estes autores sugerem que a amostragem acústica poderá ser influenciada pelo tipo sedimentar, ou seja, o sistema acústico poderá estar a discriminar entre diferentes sedimentos em vez de zonas com diferentes coberturas. Nestes estudos realizados com o objectivo de evidenciar a presença de vegetação, não foi confirmado o tipo sedimentar presente por baixo da vegetação. No presente estudo este problema foi levado em conta.

1.2 Métodos acústicos

As principais tecnologias de classificação de fundos marinhos são: o sonar de varrimento lateral, ecosondas de multifeixe e sistemas acústicos de discriminação de fundos. Os sistemas acústicos de discriminação de fundos possuem várias características que têm contribuído para a sua eleição em diversos estudos, nomeadamente as suas propriedades não invasivas, a discriminação de vários tipos de sedimentos móveis e características do fundo marinho, podendo cobrir vastas áreas com amostragens praticamente contínuas e o seu baixo custo relativamente aos sonares de varrimento lateral e aos sistemas de multi-feixe (Kenny *et al.*, 2003).

Os sistemas acústicos de classificação de fundos marinhos são amplamente usados na caracterização remota de fundos marinhos. Esta tecnologia é frequentemente utilizada em estudos dedicados às áreas da biologia e geologia marinha, construções marinhas, no sector das dragagens e para propósitos militares (Collins e Rhynas, 1998). A classificação acústica é definida como a organização do fundo marinho ou das camadas subsuperficiais do fundo em diferentes classes ou tipos sedimentares baseada nas características dos ecos reflectidos no fundo. A classificação consiste no agrupamento de ecos com características similares, recorrendo a técnicas de classificação (Preston e Collins, 2000).

Os dois tipos de sistemas acústicos de discriminação de fundos comerciais mais conhecidos são o QTC VIEWTM (Quester Tangent Corporation, Canadá) e o RoxAnnTM (Stenmar Microsystems Ltd., Escócia). No caso do sistema acústico utilizado neste estudo, QTC VIEW Série V, o transdutor apenas analisa as características e forma do primeiro eco, ao contrário do RoxAnn onde são analisados as características do primeiro e do segundo eco (Preston e Collins, 2000).

No caso do QTC VIEW Série V, o sistema de classificação de fundos é ligado a uma eco-sonda e respectivo transdutor, a bordo de um barco. É utilizado um sistema de GPS (sistema de posicionamento global) para adquirir coordenadas simultaneamente à recolha de informação acústica. Este sistema pode ser utilizado com ecosondas com diversas frequências: 38, 50, 120 e 200 kHz. As frequências mais baixas (10-100kHz), penetram mais profundamente no sedimento devido à maior energia do sinal acústico gerado. Isto permite a obtenção de mais informação sobre as características do sedimento, mas perde-se capacidade de definição das fronteiras sedimentares. Por outro lado, as frequências mais elevadas (>100 kHz), não contêm tanta informação, apesar de permitirem identificar com maior detalhe a variabilidade do fundo (Collins e Rhynas, 1998).

O sinal acústico gerado pela eco-sonda, usualmente com frequências entre 30 e 200 kHz, atravessa a coluna de água e ao atingir o fundo marinho é reflectido regressando ao transdutor onde é convertido em energia eléctrica. O transdutor envia a informação para a eco-sonda e para o QTC, onde o sinal é registado num monitor (Collins e Rhynas, 1998; Kenny *et al.*, 2003). Um computador é usado para a aquisição, armazenamento e visualização dos dados

Diferentes fundos produzem diferentes sinais acústicos (figura 3). As características do sinal acústico recebido são controladas pelas especificidades do fundo marinho. As principais influências são a rugosidade do fundo marinho e a diferença de densidades entre a água e o material do fundo marinho. A rugosidade do fundo marinho pode suceder em diferentes escalas, desde a milimétrica (granulometria sedimentar), até à escala de metros (diferentes formas do fundo). A densidade do fundo também pode ter influência no sinal acústico

recebido (Watt, 1999). Os organismos que vivem sobre ou no interior do fundo marinho também podem ter efeito sobre o sinal acústico (QTC IMPACT, 2004).

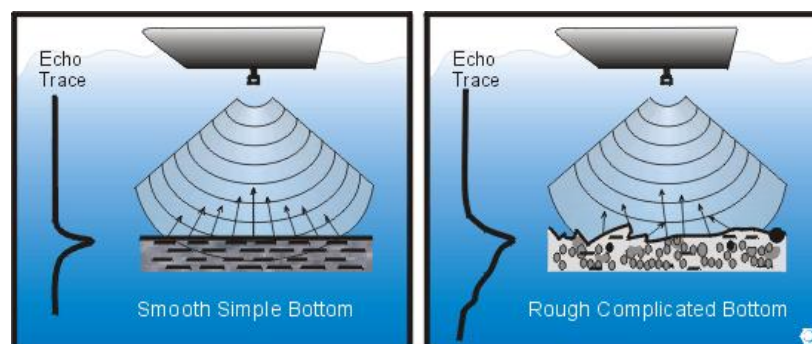


Figura 3 - Fundos marinhos hipotéticos com respectivas formas dos ecos (adaptado de QTC IMPACT, 2004).

A validação dos dados acústicos obtidos através da recolha de amostras sedimentares, utilizando cores ou dragas, ou através de métodos visuais utilizando câmaras subaquáticas ou visualização directa de mergulhadores é de extrema importância. Estes procedimentos são necessários para uma melhor interpretação dos dados acústicos e de modo a ser possível relacionar entre as assinaturas acústicas e uma escala de classificação de fundos marinhos (Freitas *et al.*, 2006).

A qualidade da informação recolhida do fundo é influenciada pelas características do impulso gerado pela ecosonda, entre estas estão o ângulo do feixe, a frequência, a duração do impulso e a taxa de emissão (Collins e Rhynas, 1998).

Outra consideração a ter sobre este sistema é a duração do impulso, que consiste no espaço de tempo no qual a sonda transmite potência ao transdutor, sendo proporcional à energia acústica que é transmitida à coluna de água, ou seja, impulsos mais longos transmitem mais energia. No entanto, um impulso muito prolongado em águas pouco profundas (<2m) resulta numa sobreposição dos ecos (Collins e Rhynas, 1998).

A taxa de emissão (ao contrário da duração da potência) pode variar. Se esta repetição for muito rápida a baixas profundidades poderá criar dados redundantes. A profundidade elevada, se a repetição for lenta serão criadas

lacunas nos dados amostrados, mas se for rápida os ecos poderão colidir entre si (Collins e Rhynas, 1998).

De modo a obter melhores resoluções dos dados, a embarcação não se poderá mover a grandes velocidades, como foi anteriormente demonstrado por Szalay e Macconnaughey (1999), isto é, considerando a mesma taxa de emissão, a velocidades superiores menos sinais acústicos são adquiridos.

1.3 Objectivo

O trabalho foi realizado no Mar Menor, lagoa costeira mediterrânica onde se tem vindo a observar por toda a sua bacia hidrográfica a disseminação da macroalga *Caulerpa prolifera* (Pérez-Ruzáfa et al. 1989; 1991; 2006). A área de estudo incluiu fundos com diferentes tipos sedimentares (areia e vasa) e foi usada uma eco-sonda de feixe simples com dupla frequência (50 e 200 kHz).

Este estudo teve como principais objectivos investigar a capacidade do sistema acústico QTC VIEW série V para discriminar fundos com e sem vegetação, nomeadamente da macroalga *Caulerpa prolifera*, com sedimentos superficiais contrastantes e testar qual das frequências (50 ou 200 kHz) é a mais apta para distinguir entre diferentes tipos sedimentares e coberturas de vegetação submersa. Neste âmbito foram testadas duas hipóteses nulas, através do uso de análise permutacional multivariável de variância (PERMANOVA). As hipóteses testadas foram: H_01 : não existem diferenças acústicas significativas entre áreas arenosas e vasosas sem cobertura vegetal; H_02 : não existem diferenças acústicas significativas entre áreas com baixa, média e elevada biomassa algal.

2 Material e métodos

2.1 Amostragem

2.1.1 Local de Estudo

Este estudo foi realizado no Mar Menor em Maio de 2008. O Mar Menor (fig. 4) é uma lagoa costeira hipersalina de 135 Km² de área, localizada no sudeste de Espanha (37°42'00" N - 00°47'00" O) com ligação ao Mar Mediterrâneo através de vários canais. A profundidade média situa-se entre 3 e 4 m, com um máximo de 7 m na zona mais central da bacia da lagoa. A gama de salinidade varia entre 42-47 e a temperatura da água entre 12-30,5 °C (Pérez-Ruzafa *et al.*, 1989; 1991; 2007).

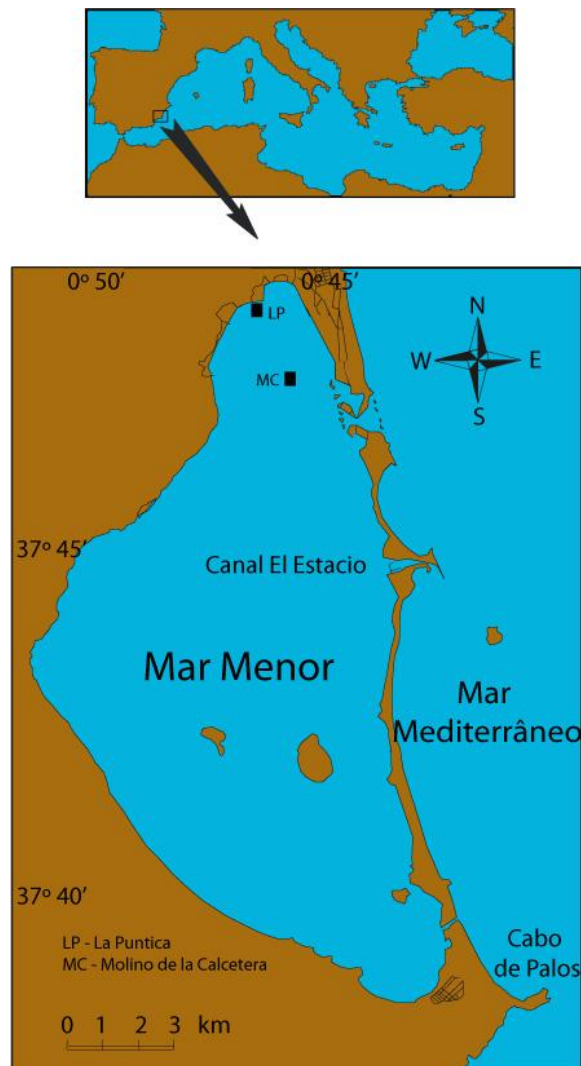


Figura 4 - Mar Menor, mostrando a localização de La Puntica (LP) e Molino de la Calcetera (MC).

“La Manga”, uma restinga de areia de 22Km de comprimento e 100-900m de largura, serve como barreira entre a lagoa e o Mediterrâneo, no entanto é atravessada por cinco canais, chamados golas. Quatro destes canais são pouco profundos (menos de 1m de profundidade) enquanto que um deles, El Estacio, sofreu um alargamento e aprofundamento (até 5 m de profundidade) de modo a ser navegável. Todos juntos têm uma largura de 645 m, dando à lagoa uma taxa de restrição de 0,015, sendo assim classificado como uma lagoa restrita segundo a classificação proposta por Kjerfve (Kjerfve, 1994 in Perez-Ruzafa *et al.*, 2005a). Existem duas ilhas principais e três mais pequenas, permanecendo uma delas ligada a “La Manga” (Perez-Ruzafa *et al.*, 2005a) (fig. 4). O alargamento do canal El Estacio permitiu um aumento nas taxas de intercâmbio de água entre a lagoa e o Mar Mediterrâneo. Isto resultou num suavizar de temperaturas extremas, essencialmente as mais baixas, e redução de salinidade, permitindo assim a colonização de novas espécies marinhas (Perez-Ruzafa *et al.*, 1991). Outras mudanças efectuadas na lagoa, tais como a construção de um porto, e desde 1987, a política de criação de praias artificiais pela dragagem de sedimentos e sua deposição ao longo da costa, levaram a mudanças tanto ambientais como biológicas (Perez-Ruzafa *et al.*, 1991). Nos últimos anos o número de espécies de moluscos e de peixes duplicou. Os prados de *Zoostera sp.*, *Cymodocea nodosa* e as escassas porções de *Posidonia oceanica* foram substituídos por mantos mistos de *C. nodosa*-*C. prolifera* ou monoespecíficos de *C. prolifera* em fundos vasosos, e raras porções de *C. nodosa* em fundos arenosos. O alastramento por parte da *C. prolifera* ainda continua e esta já se encontra sobre substrato rochoso. Mudanças na cobertura vegetal levaram a modificações na estrutura sedimentar, tais como o incremento do conteúdo em finos, devido à retenção destes no sistema rizoidal da *C. prolifera*, originando o aumento da matéria orgânica (Perez-Ruzafa *et al.*, 1991). De acordo com a sua composição granulométrica, os fundos do Mar Menor podem ser classificados em duas categorias principais: fundos vasosos e arenosos, com algumas áreas de rocha. Os fundos vasosos cobrem tanto a zona mais profunda da lagoa, como a zona menos profunda que apresenta menor hidrodinamismo. Os fundos arenosos

(>89% areia) estão sobretudo localizados nas margens da lagoa e nas pequenas baías que rodeiam as ilhas (Perez-Ruzafa *et al.*, 2005a).

2.1.2 Amostragem acústica

A amostragem acústica foi conduzida a partir de uma pequena embarcação a motor (fig. 5), onde foi montado um sistema acústico de feixe simples constituído por um sistema de discriminação de fundos (QTC VIEW Série V), uma eco-sonda de dupla frequência Hondex 7300II (50 e 200 kHz), um transdutor, um GPS e um computador portátil.



Figura 5 - Embarcação usada neste estudo.

As principais características do QTC VIEW e da eco-sonda estão representados na tabela 1. Os dados acústicos para cada frequência foram adquiridos em amostragens consecutivas. Devido ao pequeno tamanho da embarcação usada (fig.5), o transdutor foi montado na parte lateral e o mais longe possível do motor para evitar a turbulência que poderia interferir com a recepção do sinal acústico. De modo a evitar a colisão entre ecos devido à pouca profundidade, a gama de profundidades, uma das definições da ecosonda, foi ajustada para entre 0-40m, ajustando automaticamente a taxa de emissão e a duração do impulso (tabela 1). Com o objectivo de garantir a melhor cobertura acústica possível, a velocidade máxima do barco durante a amostragem foi de 2

nós, diminuindo assim a perturbação causada pelo motor e permitindo alcançar um menor espaçamento entre os ecos. Além disto, de modo a obter a maior quantidade de dados acústicos (mais ecos), as áreas de amostragem foram repetidamente amostradas, devido à pequena dimensão destas (fig. 6). A profundidade mínima à qual era seguro realizar a amostragem acústica era de cerca de 1m, devido a possíveis irregularidades no fundo marinho e à dificuldade em evitar a colisão de ecos a profundidades inferiores.

Tabela 1 - Características base de amostragem para a eco-sonda (Hondex 7300II) e QTC VIEW Series V, para ambas as frequências. CGA= Controle de ganho automático.

Parâmetro		Frequência amostrada	
		50 kHz	200 kHz
Eco-sonda	Largura do feixe	28°	10°
	Potência	600 Watt	600 Watt
	Duração do impulso	265 µs	265 µs
	Taxa de emissão	7 por segundo	7 por segundo
QTC VIEW	Controle de ganho	CGA	CGA

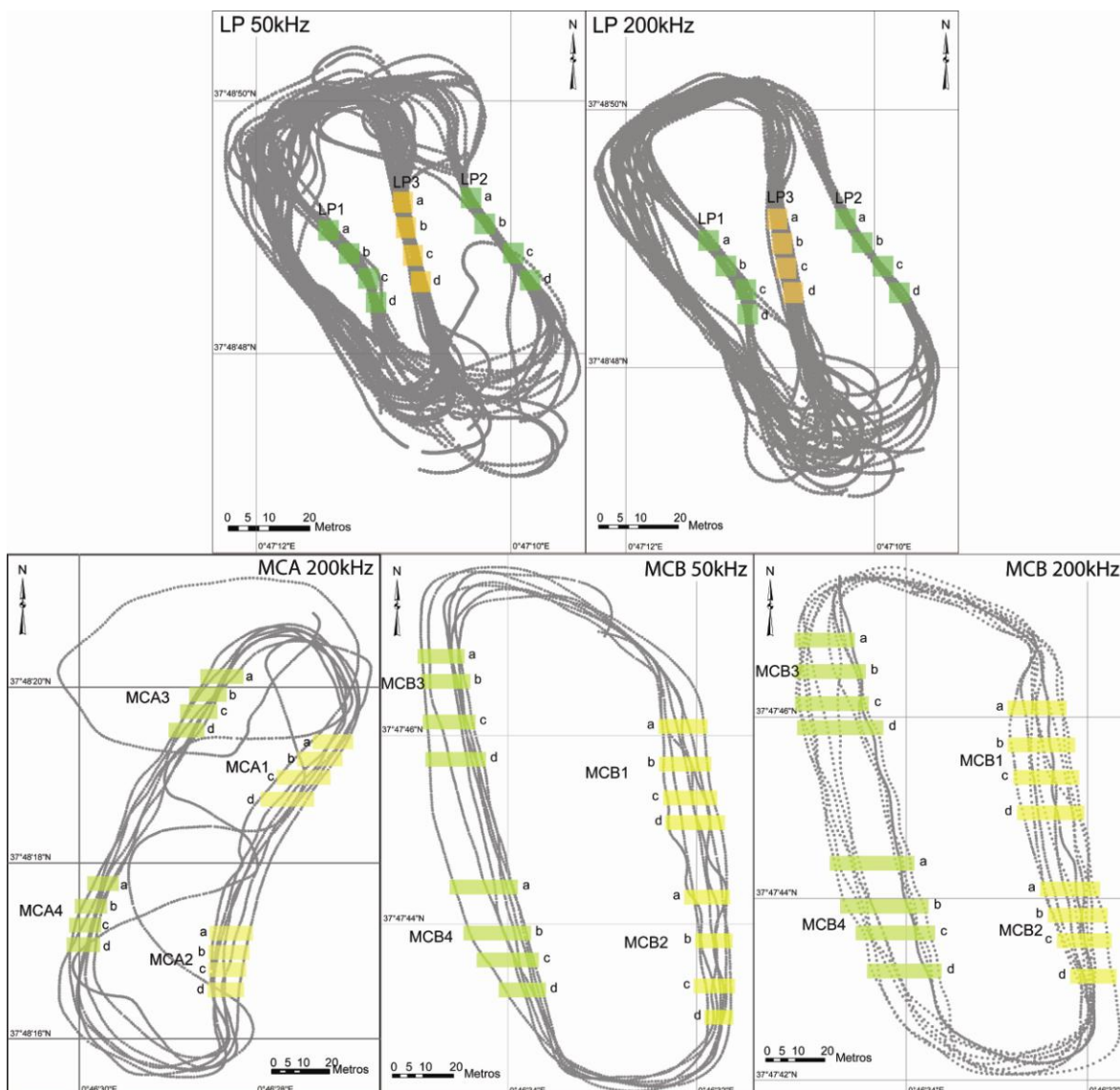


Figura 6 - Circuitos acústicos (pontos a cinzento) efectuados em todas as áreas de estudo (LP, LMA e LMB) para as duas frequências, 50 e 200 kHz. Os quadrados e rectângulos correspondem às áreas de amostragem acústica seleccionadas, de granulometria e de biomassa algal. As zonas a verde representam fundo coberto por macroalgas.

Na perspectiva de encontrar as áreas mais apropriadas para a realização deste estudo, efectuou-se uma busca prévia por toda a lagoa. Foram seleccionadas áreas em fundos arenosos e vasosos para a realização deste estudo, localizadas respectivamente em Molino de la Calcetera (MC) e junto à costa de La Puntica (Lo Pagán) (LP) (fig. 4), entre profundidades de 1,5 e 2,5 metros. Os circuitos acústicos efectuados foram demarcados através do uso de bóias sinalizadoras (fig. 7).



Figura 7 - Bóias delimitando o circuito efectuado pelo barco na área de La Puntica.

A amostragem acústica realizada em MC incluía fundos com e sem *C. prolifera*. Em Molino de la Calcetera foram seleccionadas duas áreas (MCA e MCB) para a realização da amostragem acústica, onde o fundo era predominantemente arenoso e a biomassa de macroalgas era bastante menor à observada em fundos vasosos. Em cada uma destas áreas foram amostrados 2 locais com e 2 locais sem cobertura macroalgal, existindo assim replicação dos locais em MC.

Junto à costa de La Puntica, apenas uma área foi seleccionada (LP) para efectuar o levantamento acústico. Esta área era constituída por fundos vasosos inteiramente cobertos por macroalgas, apresentando algumas zonas densamente cobertas. Nesta área tentou-se repetir o mesmo desenho experimental utilizado nas áreas de MC. Isto não foi possível devido à inexistência de fundos vasosos sem cobertura macroalgal, ou seja, não se alcançou tanto a replicação da área, como do local sem cobertura macroalgal em LP. De modo a criar zonas sem cobertura na área LP foi efectuada a remoção de algas à mão e com o auxílio de ancinhos, através de mergulho com escafandro autónomo, de uma área de aproximadamente 100 m² [20 x 5 m]. Na demarcação do local onde se removeram as algas foi utilizado um fio bem visível, colocado junto ao fundo, no qual se amarraram pequenas bóias para ajudar na orientação dos mergulhadores. Antes da marcação e da remoção das macroalgas, os mergulhadores tiveram um curto

treino de orientação debaixo de água, perto do local onde foi executada a remoção.

Nas três áreas (LP, MCA e MCB) seleccionadas foram realizadas amostragens acústicas com ambas as frequências (50 e 200 kHz). Infelizmente na área MCA, devido a um problema pontual com o equipamento acústico, não se conseguiram obter com êxito os dados acústicos referentes à frequência de 50 kHz.

2.1.3 Amostragem de sedimentos e algas

As áreas cobertas acusticamente foram amostradas para análises granulométricas dos sedimentos superficiais e de biomassa de *C. prolifera*. Para cada uma das áreas (MCA e MCB) (fig.6) de Lo Molino de la Calcetera foram estabelecidos 4 locais de amostragem, 2 em fundos não cobertos (MCA1, MCA2, MCB1, MCB2) e 2 em fundos cobertos pela macroalga (MCA3, MCA4, MCB3, MCB4), totalizando 8 locais de amostragem em cada área. Em cada local, 4 replicados foram efectuados (a, b, c, d,) para ambos os descritores. Relativamente à área de La Puntica (LP), foram estabelecidos 3 locais de amostragem (LP1, LP2, LP3). O local LP3, que está localizado entre LP1 e LP2, foi seleccionado para a remoção da cobertura macroalgal. Em LP1 e LP2 foram amostradas 4 replicas (a, b, c, d) para análises de granulometria sedimentar e de biomassa algal, enquanto no local LP3, 8 replicados foram realizados para análise granulométrica sedimentar, 4 antes e 4 após a remoção da alga. Para averiguar da alteração ou não da estrutura sedimentar superficial devido à remoção de *C. prolifera*.

Todas as amostragens foram realizadas através de mergulho autónomo (fig. 8). Cada amostragem foi realizada por dois mergulhadores, enquanto um recolhia as amostras o outro, através de mergulho em apneia, transportava as amostras já recolhidas até ao barco de apoio. As algas (folhas e sistema rizoidal) foram obtidas por arrancamento com as mãos de uma área de [20 x 20 cm] e colocadas num saco de rede. As amostras sedimentares foram executadas com um corer ou com uma pá, consoante a compactação do sedimento, sendo

seguidamente colocadas em sacos de plástico, apresentando um volume entre 500 – 1000 cm³.



Figura 8 - Mergulhadores preparando-se para a recolha de amostras

2.2 Análise laboratorial

2.2.1 Granulometria sedimentar

A análise granulométrica foi realizada através de crivagem húmida e a seco segundo os seguintes passos adaptados de Quintino *et al.* (1989): (1) Lavagem do sedimento com água doce; (2) Destruição química de matéria orgânica usando água oxigenada (H₂O₂) utilizando sucessivamente, concentrações crescentes: 30, 65 volumes e 130 volumes; (3) Secagem da amostra a 60°C, até obtenção de um peso constante (48 horas) e determinação do peso seco total (=P1); (4) Dispersão química do sedimento por 24 horas em pirofosfato de tetra-sódio decahidratado (30g/l); (5) Crivagem húmida através de uma malha de 63 µm; (6) Secagem do material retido na malha de 63 µm a 60°C, até obtenção de um peso constante (48 horas); (7) Determinação do peso seco do material retido na malha de 63 µm (=P2) e cálculo do peso seco da fracção inferior a 63 µm pela diferença (P1-P2); (8) Crivagem mecânica a seco da fracção P2 usando crivos com malhas entre 63 µm (4Φ) e 4 mm (-2Φ), em intervalos de 1Φ (Φ= -log₂ dimensão da partícula expresso em mm); (9) Pesagem das fracções retidas em cada crivo; (10)

Determinação da percentagem de cada fracção em relação ao peso seco total (excepto a percentagem biogénica).

2.2.2 Biomassa algal

As macroalgas foram separadas do sedimento, lavadas e secas ao ar (fig. 9). Todos os organismos incrustados nas algas foram igualmente removidos. A *Caulerpa prolifera* era a única macroalga bentónica (ou seja, permanentemente presa ao sedimento) encontrada em abundância na área de estudo. Após a identificação, a biomassa de *C. prolifera* colhida foi medida como peso seco (PS) e peso seco livre de cinzas (PSLC). A determinação do PS foi obtida após secagem das macroalgas a 80°C, até obtenção de um peso seco constante (48 horas), seguidamente o PSLC foi determinado pela carbonização numa mufla a 500 °C durante 5 horas. O peso foi calculado com uma precisão de $\pm 0,01$ g. Para todas as análises de dados efectuadas foi usado o PSLC. A matriz final dos dados de biomassa algal está presente no anexo II.



Figura 9 - Lavagem e separação do sedimento das macroalgas.

2.3 Análise de dados

2.3.1 Dados acústicos

O tratamento dos dados acústicos foi igual para ambas as frequências (50 e 200 kHz). O QTC VIEW Série V registou as ondas de pressão acústica recolhidas pelo transdutor (eco ou registo) e gerou dados sobre a forma total de onda (ficheiro fwf) e também baseados na amplitude da forma total de onda, designadamente o envelope (ficheiro env). Ao copiar os dados do ficheiro fwf, o software QTC IMPACT v.3.4 cria um ficheiro env que é igual ao ficheiro gerado pelo QTCVIEW. Neste estudo, para ambas as frequências, foram utilizados os ficheiros fwf, dado que estes dados são relativos à forma total da onda, no entanto não eram esperadas diferenças entre as análises efectuadas com base nestes ficheiros e nos ficheiros env.

Os dois conjuntos de dados (50 e 200 kHz) foram processados separadamente pelo software QTC IMPACT v3.4 que, através do uso de uma série de algoritmos, descreve o eco recebido em 166 variáveis (Full Feature Vectors, ficheiro FFV). A profundidade e o posicionamento de cada eco podem ser conhecidos a partir deste ficheiro, usando para isto o software IMPACT v3.4. Ecos suspeitos de conterem erros podem ser eliminados para futuras análises e então o ficheiro FFV pode ser submetido a uma análise de componentes principais (PCA), donde apenas são extraídos os valores relativos dos 3 eixos principais (Q1, Q2, Q3), para cada eco. Assim a descrição dos ecos é representada por apenas 3 variáveis, no entanto estas representam a maior parte da informação presente na matriz das 166 variáveis, sendo importante referir que os valores de Q1, Q2 e Q3 variam em função do tamanho da matriz submetida ao PCA. No caso das 166 variáveis que descrevem cada eco no ficheiro FFV, estas são sempre iguais, não dependendo do tamanho da matriz de dados submetida à PCA (QTC IMPACT, 2004). Esta é a razão pela qual usámos neste estudo a matriz original (ficheiro FFV), onde cada eco é descrito por 166 variáveis, e não a matriz de dados simplificada pela PCA produzida pelo software IMPACT v3.4.

Embora o ficheiro FFV só possa ser utilizado no software IMPACT v3.4., pode ser gravado no formato ASCII (**A**merican **S**tandard **C**ode for **I**nformation **I**ntercharge). Cada ficheiro FFV ASCII contém os dados da ecosonda e os

processados no software IMPACT v3.4, nomeadamente, a profundidade, posicionamento e as 166 variáveis. Os ficheiros no formato ASCII não permitem o seu processamento directo, implicando uma reformatação. No intuito de aceder a este tipo de ficheiro foi criado um software de aplicação de conversão Microsoft® Windows® (v 1.0.8.45), usando a ferramenta de desenvolvimento Microsoft® Visual® c#2005. Esta aplicação converte os ficheiros no formato ASCII em ficheiros CSV, conservando estes ficheiro os dados presentes no ficheiro ASCII. O desempenho desta aplicação é independente do número de FFV e de ecos. Atendendo a que normalmente o ficheiro FFV ASCII apresenta um grande tamanho, consequência do elevado número de ecos, foi dada especial atenção ao algoritmo de processamento de forma a minimizar o tempo de processamento e uso de memória do CPU. Este algoritmo processa cada eco separadamente, e somente a profundidade, posição e as 166 variáveis foram exportadas para o ficheiro CSV. O Tab é usado como delimitador. Durante o processamento dos dados, os registos que não apresentarem profundidade ou posicionamento não são considerados. O ficheiro CSV é um formato que pode ser aberto, visto, modificado e salvo em Microsoft® Office Excel®. O ficheiro em Excel pode ser salvo em formato dbf (ficheiro de base de dados), podendo assim ser exportado para um sistema de informação geográfica (GIS) ou outro software de análise de dados.

Usando um GIS é possível a visualização da distribuição espacial dos ecos e dos locais de amostragem sedimentar e de biomassa algal. Ao redor de cada local de amostragem foi seleccionada uma área quadrada de igual tamanho para todos os replicados, incluindo os ecos respectivos de cada uma, permitindo assim a atribuição de informação acústica aos locais de amostragem, chamada de área de amostragem acústica. Geralmente cada área acústica inclui entre 40 e 50 registos. A matriz de dados acústicos representativa de cada local de amostragem (fig. 10) contem todos os ecos, e respectivas 166 variáveis e posição, presentes no interior das áreas seleccionadas. Para cada replicado de cada local de amostragem, a matriz final de dados acústicos é representada pela média de todos os registos, para cada uma das 166 variáveis. Esta matriz não incluía a profundidade nem a posição.

Eco	Lat	Lon	Profundidade	166 variáveis
1				
2				
...				
N				
Média				

Local	Replicados	166 variáveis
LP 2	LP2a	
	LP2b	
	LP2c	
	LP2d	

Figura 10 - Ilustração das tabelas obtidas depois da exportação do ficheiro CSV, nomeadamente, com os pontos de um replicado de um local de amostragem com as 166 variáveis, posição e profundidade (esquerda) e de um local de amostragem com as 166 variáveis.

2.3.2 Granulometria sedimentar

Para cada replicado (4 por local) de cada local (11 no total), a quantidade de peso seco correspondente a cada classe granulométrica foi expressa em percentagem relativa ao peso seco total. Estes valores foram utilizados no cálculo da mediana, correspondendo este valor ao diâmetro do grão ao qual metade dos grãos da amostra tem diâmetro inferior e outra metade diâmetro superior. Em relação ao conteúdo em finos (partículas inferiores a 63 μm), não foi realizada nenhuma análise detalhada. Assim, a mediana para amostras com um conteúdo de finos superior a 50% não pode ser calculada, sendo estas amostras classificadas como vasa. As areias (amostras com menos de 50% de finos) foram divididas de acordo com os valores de mediana, expresso em unidades de Φ , segundo a escala de Wentworth (Doeglas, 1968) com uma adaptação proposta por Larssonneur (1977) (tabela 2).

A matriz final dos dados granulométricos (Anexo I) inclui, para cada replicado amostrado, seis classes (>1 ; 0.5-1; 0.25-0.5; 0.125-0.5; 0,.063-0.125; <0.063 mm).

Tabela 2 - Classificação sedimentar , adaptada de Wenworth (Doeglas, 1968) e de Larssoneur 1977.

Mediana (Φ)	Classificação sedimentar	Conteúdo em finos		
		<5	5-25	25-50
(-1) – 0		limpa	vasosa	Muito vasosa
0 – 1				
1-2	Areia			
2-3				
3-4				
≥4	Vasa	≥50		

2.3.3 Correlação entre o conteúdo em finos e a biomassa algal

Foi realizada uma análise da correlação de Spearman entre o conteúdo de finos e a biomassa algal para os replicados de todos os locais que apresentavam vegetação.

2.3.4 Desenho experimental

As matrizes finais de dados acústicos (50 e 200kHz) e granulométricos, contendo os valores para cada uma destas variáveis para todos os locais (representados pelas réplicas), foram submetidas a testes de hipóteses usando análise permutacional multivariável de variância (PERMANOVA) do software Primer v6 (Clarke e Gorley, 2006), tendo como base o cálculo da distância Euclideana entre amostras. PERMANOVA é uma rotina que testa simultaneamente a resposta de uma ou mais variáveis a um ou mais factores, com um desenho experimental de análise de variância (ANOVA) com base em medidas de similitude, usando métodos permutacionais (Anderson *et al.*, 2008). Em qualquer análise realizada através de PERMANOVA é necessário criar um modelo, que providencia a informação necessária sobre a separação dos factores e do desenho experimental. Um factor é definido como uma variável categórica que caracteriza grupos de amostras com características similares que queremos comparar (Anderson *et al.*, 2008). Na criação do modelo para a PERMANOVA, os factores têm de ser classificados como fixos ou aleatórios e como ortogonais ou aninhados. Os factores fixos são definidos como as variáveis que são objectivo de estudo (p.e. cobertura neste estudo), as quais o investigador inclui todos os níveis (com e sem cobertura) no estudo, enquanto no caso dos factores aleatórios, os

seus níveis podem ser vistos como escolhidos aleatoriamente entre outros níveis que podiam ser seleccionados (p.e. os locais neste estudo). Em relação aos factores, dois factores são ortogonais se todos os níveis de um factor estão presentes em todos os níveis do outro factor e vice-versa, pelo contrário, um factor é aninhado noutro se os seus níveis não correspondem a todos os níveis do outro factor, sendo este último um factor de nível superior (necessariamente fixo) (Anderson *et al.*, 2008).

Os valores de pseudo-F nos testes globais e os valores de estatística t nas comparações à posteriori duas a duas da PERMANOVA foram avaliados como valores de significância entre grupos para os factores testados. Nos testes globais comparam-se todos os níveis dos factores a testar, enquanto pares de níveis do factor de interesse são comparados nas comparações à posteriori duas a duas. Nestas análises foi escolhido um valor de significância de $\alpha=0.05$, ou seja, valores de $p < 0.05$ revelavam que os grupos comparados eram significativamente diferentes entre si (Anderson *et al.*, 2008).

As análises dos dados acústicos também incluíram dados granulométricos e de biomassa algal como covariáveis. Podem ser conhecidas relações entre as variáveis em teste (dados acústicos) e outras variáveis quantitativas (covariáveis). Isto tem interesse na análise das possíveis respostas dos dados a estas relações conhecidas. No caso dos dados granulométricos, para covariável foi seleccionado o resultado do primeiro eixo de uma PCA, enquanto que no caso da biomassa algal foi usado o peso seco livre de cinzas (PSLC). No uso das covariáveis é seleccionado o tipo I de soma de quadrados, permitindo a introdução da covariável no modelo e a manutenção da ordem com introdução dos factores no modelo em relação uns aos outros (Anderson *et al.*, 2008).

Para cada conjunto de dados, foram realizadas análises de ordenação nMDS (non-metric multidimensional scaling), de modo a visualizar os padrões de variação existentes (Clarke e Gorley, 2006). Os diagramas incluem o valor de stress, que quantifica a diferença entre o que é representado nos diagramas de ordenação e as distâncias Euclidianas entre as amostras (Clarke e Warwick, 2001).

As hipóteses nulas testadas foram as seguintes:

H₀1: Não existem diferenças acústicas significativas entre áreas arenosas e vasosas sem cobertura vegetal

Neste teste foram usadas áreas sem cobertura vegetal mas com fundos caracterizados por diferentes tipos sedimentares. As áreas arenosas que estão presentes em Molino de la Calcetera (MCA e MCB) são representadas pelos locais de amostragem correspondentes sem vegetação (MCA1, MCA2, MCB1, MCB2). Em relação à área com fundo de vasa (LM) é representada pelo local sem vegetação criado artificialmente em La Puntica (LP3) através do arrancamento das macroalgas. Devido às inesperadas dificuldades encontradas durante este processo relacionadas com o sistema rizoidal da macroalga, não foi possível criar um desenho experimental similar ao de MC, ou seja, não se obteve a replicação, em sedimento vasoso, de áreas e de locais sem macroalga dentro de uma área. No local onde se criaram fundos vasosos sem cobertura macroalgal (LP3) foram amostradas 8 replicas, 4 antes e 4 depois da remoção das algas, para testar a hipótese nula de que não existem diferenças sedimentares significativas antes e depois da remoção.

Para testar H₀1 com os dados granulométricos e os dados dos 200 kHz, foi criado um modelo de três factores aninhados, respectivamente, tipo sedimentar constituído por dois níveis, areia e vasa, como factor fixo, área, como factor aleatório e aninhado no tipo sedimentar (LP para vasa, MCA e MCB para areia) e locais como factor aleatório e aninhado nas áreas e no sedimento (LP3a para LP e vasa; MCA1 e MCA2 para MCA e areia; MCB1 e MCB2 para MCB e areia). Este modelo é assimétrico, visto que não foi possível realizar a replicação de locais e áreas em sedimento vasoso. Para os 50 kHz o modelo utilizado foi mais simples, apenas com dois factores, porque não se conseguiu obter dados acústicos para a área de MCA. A análise realizada aos dados acústicos foi complementada com o uso da granulometria sedimentar como covariável.

H₀2: Não existem diferenças acústicas significativas entre áreas com baixa, média e elevada biomassa algal

Foram definidos três níveis de biomassa – conteúdo em finos, nomeadamente alto, baixo e elevado, como resultado de uma análise da

correlação entre o conteúdo em finos e a biomassa algal da amostra. A hipótese nula foi testada para os dados dos 200 kHz com um modelo aninhado com dois factores, usando a relação biomassa – conteúdo em finos como factor fixo, e locais como factor aleatório com três níveis, com dois locais por nível e 4 replicados por local: locais MC3 e MC4 para o nível baixo; locais MCA3 e MCA4 para o nível médio; locais LP1 e LP2 para o nível elevado de Biomassa - Conteúdo em finos. Relativamente aos 50 kHz foi usado um modelo simplificado, porque não existem dados acústicos disponíveis para o nível de média biomassa/conteúdo de finos (LMA). A análise aos dados acústicos foi complementada com o uso de covariáveis: biomassa algal, granulometria sedimentar e os resultados do primeiro eixo de uma PCA realizado sobre uma matriz de dados de biomassa – conteúdo de finos.

2.3.5 Correlação entre os dados acústicos e as covariáveis usadas nos desenhos experimentais

Foi efectuada uma análise da correlação de Spearman entre o resultado do 1º eixo de uma PCA realizada sobre os dados acústicos, para ambas as frequências, e as covariáveis utilizadas nos desenhos experimentais (biomassa algal, conteúdo em finos, biomassa - conteúdo em finos e granulometria. As análises referentes aos 50 kHz envolviam dois níveis do factor biomassa – conteúdo em finos, no caso dos 200 kHz foram usados dois e três níveis deste mesmo factor.

3 Resultados

3.1 Granulometria sedimentar e biomassa algal

Os resultados da granulometria sedimentar e de biomassa de *C. prolifera* de todas as áreas em estudo estão representados na tabela 3. Todos os sedimentos dos locais da área Molino de la Calcetera foram classificados como areias, apesar de os locais cobertos com vegetação apresentarem uma granulometria mais grosseira (areia média limpa), com um conteúdo em finos menor quando comparados com os locais cobertos pela vegetação (areia muito fina e muito vasosa - MCA e muito fina limpa - MCB) que também apresentam entre si variação no conteúdo em finos. Para a área de La Puntica todos os locais apresentam sedimentos vasosos. A biomassa da macroalga é diferente para cada estação, apresentando um certo gradiente LP> MCA> MCB. A capacidade da macroalga *C. prolifera* em reter partículas sedimentares finas através do seu sistema rizoidal tem vindo a ser descrita (Pérez-Ruzafa *et al.*, 1991). Os nossos dados e também as observações no local indicam no sentido de que esta ideia corresponde à verdade. Durante a procura de locais para a realização deste trabalho, não foram encontradas áreas com fundos vasosos sem cobertura macroalgal, aliado ao facto de que na área de Molino de la Calcetera as zonas cobertas pelas macroalgas apresentavam uma fina camada superior de sedimento vasoso, ao contrário das zonas em que não havia macroalgas onde essa camada era inexistente. Consoante a cobertura macroalgal fica mais densa, mais vasosos se tornam os fundos, até se atingir a situação de La Puntica que apresenta uma camada superior bastante espessa de sedimentos finos. A pequena diferença entre a biomassa algal, comparando os locais de MCA com os de MCB, corresponde a grandes diferenças no conteúdo granulométrico, isto leva a supor que nos estados iniciais de fixação da macroalga, pequenos incrementos na biomassa algal têm como consequência grandes aumentos no teor em finos do sedimento. Tal como foi indicado por Pérez-Ruzafa (1991), é admissível sugerir que a disseminação da macroalga *C. prolifera* pelo Mar Menor contribui para o envasamento progressivo dos sedimentos superficiais.

Tabela 3 - Granulometria sedimentar, expressa em percentagem do peso total do sedimento, mediana em unidades phi (Φ), biomassa algal, expressa em peso das cinzas (g) e classificação sedimentar. Os valores por local correspondem à média dos 4 replicados.

Locais	Classes granulométricas (mm)						Mediana (Φ)	Biomassa (AFDW, g)	Classificação sedimentar
	1.000	0.500	0.250	0.125	0.063	<0.063			
MCA1 sem cobertura	2.08	14.58	48.47	33.79	0.89	0.29	1.70	0.00	Areia média limpa
MCA2 sem cobertura	4.26	13.03	45.17	34.68	1.84	1.02	1.76	0.00	Areia média limpa
MCA3 com cobertura	0.87	0.63	1.45	13.98	38.53	44.32	3.86	8.435	Areia muito fina e muito vasosa
MCA4 com cobertura	0.67	0.73	15.15	19.41	21.13	42.82	3.56	8.755	Areia muito fina e muito vasosa
MCB1 sem cobertura	1.21	13.92	38.20	45.53	0.96	0.22	1.89	0.00	Areia média limpa
MCB2 sem cobertura	0.87	8.45	43.84	45.73	0.76	0.47	1.93	0.00	Areia média limpa
MCB3 com cobertura	2.47	4.55	21.86	63.35	3.69	4.08	2.33	6.355	Areia fina limpa
MCB4 com cobertura	2.62	3.96	20.20	62.63	6.07	4.53	2.37	6.238	Areia fina limpa
LP1 com cobertura	2.54	3.27	4.32	5.63	3.00	80.71	>4.00	21.588	Vasa
LP2 com cobertura	0.93	1.05	1.61	2.74	2.20	91.23	>4.00	14.178	Vasa
LP3 com cobertura	1.56	1.98	3.47	3.27	1.63	86.87	>4.00	-	Vasa
LP3a sem cobertura	1.33	1.95	3.72	4.37	1.92	86.00	>4.00	0.00	Vasa

3.2 Correlação entre o conteúdo em finos e a biomassa algal

Na figura 11 estão representados o conteúdo em finos e a biomassa algal das amostras. A relação é directa e embora para valores mais elevados dos descritores a dispersão aumente, uma correlação de Spearman positiva significativa foi observada ($p=0.72$). As amostras recolhidas nas três áreas representam um gradiente de Biomassa - Conteúdo em finos, correspondendo respectivamente a elevada (LP), média (MCA) e baixa (MCB) biomassa algal/Conteúdo em finos. Estes níveis foram usados posteriormente em testes de hipóteses, com o objectivo de verificar se as suas assinaturas acústicas diferiam.

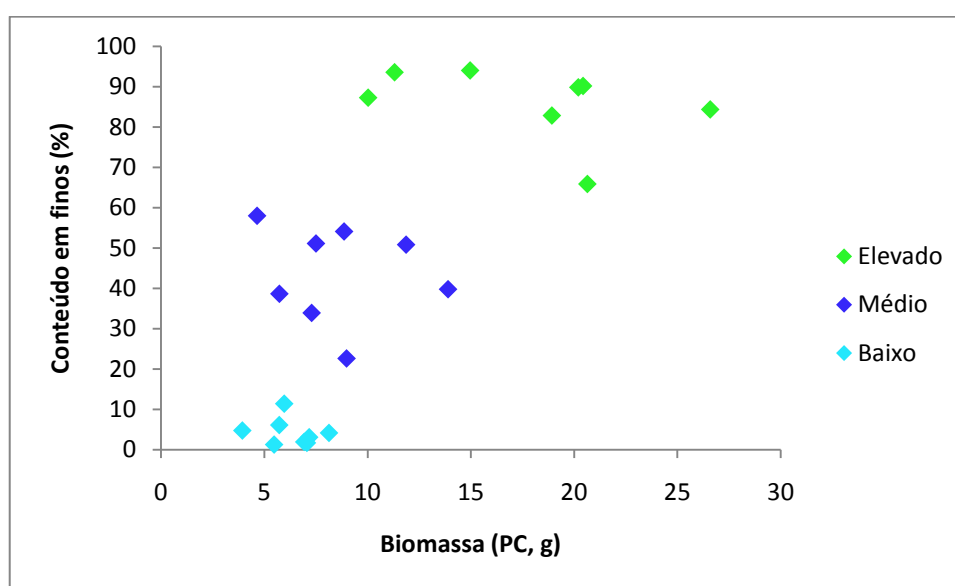


Figura 11 - Relação entre o conteúdo em finos do sedimento (percentagem do peso seco no total do sedimento) e biomassa algal (peso seco livre de cinzas).

3.3 Desenho experimental

H₀1: Não existem diferenças acústicas significativas entre áreas arenosas e vasosas sem cobertura vegetal

Nesta hipótese nula foram usados dados acústicos de locais sem vegetação, com diferentes sedimentos, respectivamente, vasa em LP e areia média limpa em MC. Na área de estudo LP, onde foi criado artificialmente um local não coberto, foram recolhidos 8 replicados de sedimento (4 antes e 4 depois da remoção da alga). Os resultados da PERMANOVA realizada para estes dois conjuntos de amostras revelam que não existem diferenças significativas entre os dados sedimentares antes e depois da remoção (pseudo-F= 0.134 e $p= 0.90$).

Os principais resultados referentes a esta hipótese nula estão apresentados na tabela 4. Estes revelam-se similares para a granulometria e para os dados acústicos: não existem diferenças significativas entre locais nem entre áreas, por sua vez existem diferenças ($p=0.005$) entre diferentes tipos sedimentares. Quando foi usada a granulometria sedimentar ou o conteúdo em finos como covariável, as diferenças entre os diferentes tipos sedimentares para ambas as frequências desapareceram. Estes resultados indicam que ambas as frequências são sensíveis à estrutura sedimentar e conseguem distinguir fundos arenosos de vasosos.

Na figura 12 está representada uma análise de ordenação (nMDS), que mostra uma separação bem clara nos dados acústicos e sedimentares de áreas com diferentes tipos sedimentares, apoiando assim os resultados alcançados através da análise PERMANOVA.

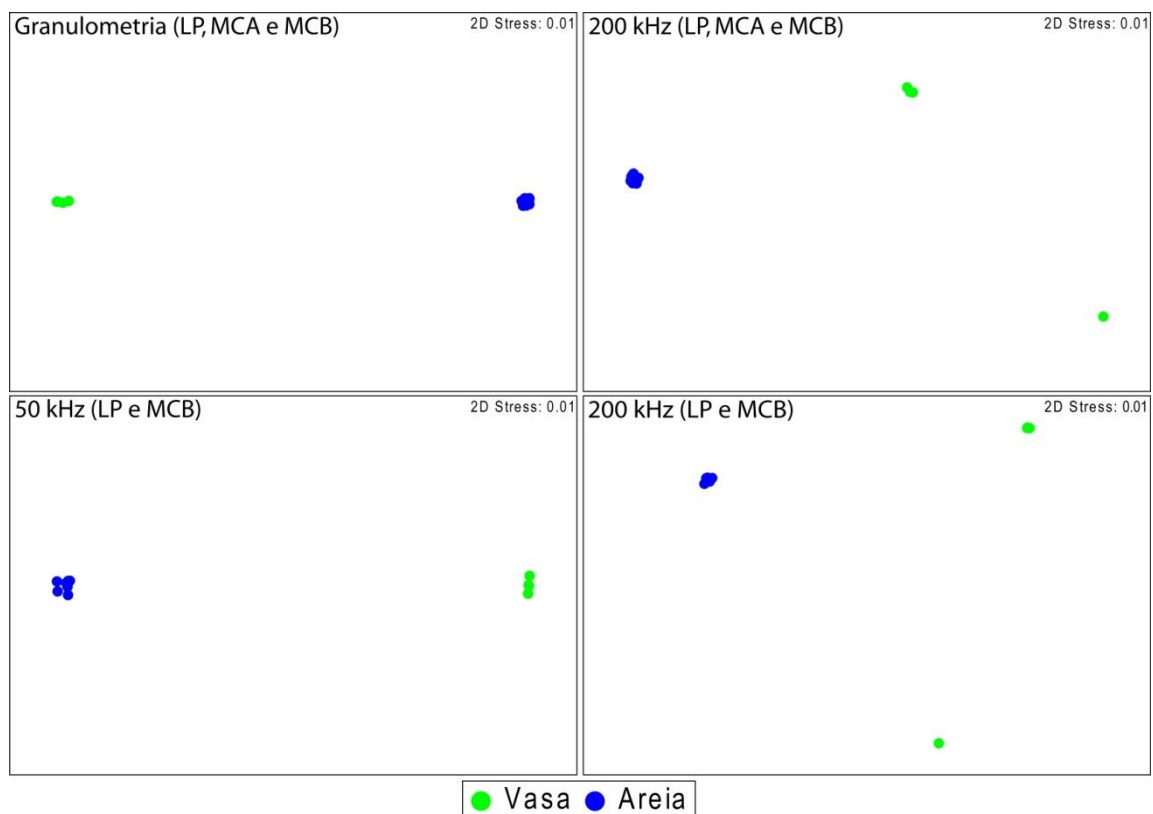


Figura 12 - Diagramas de ordenação (NMDS) dos dados sedimentares e acústicos (50m e 200 kHz) para 2 (LP e MCB) e 3 áreas de estudo (LP, MCA e MCB) relativos aos locais de amostragem sem cobertura macroalgal.

Tabela 4 - Resultados da PERMANOVA para o teste da H_01 , para ambas as frequências (50 e 200 kHz). gl - graus de liberdade; SQ - soma dos quadrados; MS - média dos quadrados; Se - tipos sedimentares; Ar(Se) - áreas aninhadas nos tipos sedimentares; Lo (Se) – locais aninhados no tipos sedimentares; LO(Ar(Se)) – locais aninhados nas áreas e nos tipos sedimentares; Re – resíduos; Cov – covariável; n.s. não significativo.

Fonte	gl	SQ	MQ	Pseudo-F	p
Teste global para granulometria					
Se	1	32969	32969.00	72.69	0.005
Ar(Se)	1	701.08	701.08	8.51	0.059 (n.s.)
Lo(Ar(Se))	2	164.68	82.34	0.11	0.964 (n.s.)
Res	15	11505	766.99		
Total	19	45340			
Teste global para o conteúdo em finos					
Se	1	23390	23390	50119	0.0001
Ar(Se)	1	0.39	0.39	0.658	0.509 (n.s.)
Lo(Ar(Se))	2	1.17	0.59	0,0398	0.963 (n.s.)
Res	15	221.28	14.75		
Total	19	23613			
Teste global para 200 kHz					
Se	1	2259.60	2259.60	69.17	0.002
Ar(Se)	1	46.39	46.39	3.84	0.097 (n.s.)
Lo(Ar(Se))	2	24.16	12.08	0.25	0.918 (n.s.)
Res	15	728.86	48.59		
Total	19	3059			
Teste global para 50 kHz					
Se	1	1485.50	1485.50	23.72	0.020
Lo(Se)	1	62.62	62.62	2.30	0.087 (n.s.)
Res	9	244.90	27.21		
Total	11	1793			
200 kHz com granulometria como covariável					
Cov	1	2219.70	2219.70	63.14	0.0004
Se	1	65.08	65.08	1.33	0.250 (n.s.)
Ar(Se)	1	49.22	49.22	3.80	0.085 (n.s.)
Lo(Ar(Se))	2	23.84	11.92	0.24	0.928 (n.s.)
Res	14	701.18	50.08		
Total	19	3059			
200 kHz com conteúdo em finos como covariável					
Cov	1	2230.8	2230.8	67.955	0.0001
Se	1	58.10	58.10	1.171	0.290 (n.s.)
Ar(Se)	1	46.695	46.695	3.981	0.093 (n.s.)
Lo(Ar(Se))	2	23.46	11.73	0.235	0.932 (n.s.)
Res	14	699.98	49.998		
Total	19	3059			
50 kHz com granulometria como covariável					
Cov	1	1464.60	1464.60	23.94	0.001
Se	1	28.77	28.77	0.94	0.441 (n.s.)
Lo(Se)	1	61.32	61.32	2.06	0.116 (n.s.)
Res	8	238.30	29.79		
Total	11	1793			
50 kHz com conteúdo em finos como covariável					
Cove	1	1471.20	1471.20	23.593	0.002
Se	1	22.20	22.20	0.740	0.558 (n.s.)
Lo(Se)	1	62.71	62.71	2.117	0.111 (n.s.)
Res	8	236.92	29.62		
Total	11	1793			

H₀2: Não existem diferenças acústicas significativas entre áreas com baixa, média e elevada biomassa algal

Através da relação biomassa - conteúdo em finos foi possível separar as áreas em diferentes níveis deste factor, baixo, médio e elevado, correspondendo a MCB, MCA e LP, respectivamente. Os resultados dos testes globais e das comparações à posteriori duas a duas realizados para esta hipótese nula, relativos às variáveis ambientais, são apresentados na tabela 5. Para todos os testes globais os dados de áreas com cobertura algal diferente são significativamente diferentes e as comparações à posteriori duas a duas mostram que as áreas diferem significativamente umas das outras. Dada a rejeição de H₀1 nula estas diferenças sedimentares poderão vir a mascarar as diferenças acústicas que vão ser testadas em H₀2.

Tabela 5 - Resultados da PERMANOVA para os testes da H₀2, para as variáveis ambientais: teste global e comparações à posteriori duas a duas. gl - graus de liberdade; SQ - soma dos quadrados; MS - média dos quadrados. Ar(Se) - áreas aninhadas nos tipos sedimentares; Lo (Ar) - locais aninhados nas áreas; Re - resíduos; n.s. - não significativo.

Teste global						Comparações à posteriori duas a duas		
Fonte	Gl	SQ	MQ	Pseudo-F	<i>p</i>	Fonte	<i>t</i>	<i>P</i>
Biomassa algal e conteúdo em finos								
Ar	2	37.23	18.62	18.44	0.004	Elevado vs Médio	3.12	0.044
Lo(Ar)	3	3.03	1.01	3.17	0.032	Elevado vs Baixo	4.85	0.015
Res	18	5.74	0.32			Médio vs Baixo	33.36	0.0001
Total	23	46.00						
Granulometria								
Ar	2	47134	23567	53.04	0.0002	Elevado vs Médio	4.07	0.016
Lo(Ar)	3	1333	444.33	1.99	0.086 (n.s.)	Elevado vs Baixo	17.04	0.001
Res	18	4009.1	222.73			Médio vs Baixo	5.81	0.004
Total	23	52476						
Conteúdo em finos								
Ar	2	26686	13343	176.88	0.0007	Elevado vs Médio	7.98	0.014
Lo(Ar)	3	226.3	75.44	0.96	0.437 (n.s.)	Elevado vs Baixo	15.51	0.003
Res	18	1421.7	78.98			Médio vs Baixo	50.23	0.0004
Total	23	28334						

Os resultados da H₀2 para os 200 kHz incluindo os 3 níveis de Biomassa – Conteúdo em finos estão representados na tabela 6. Estes resultados demonstram que existem fortes diferenças entre dados acústicos relativos aos 200 kHz para áreas de níveis diferentes de biomassa – conteúdo em finos. Quando se usam descritores sedimentares (Granulometria e conteúdo em finos) como covariáveis, as diferenças entre os diferentes níveis não desaparecem, ou

seja, as diferenças no sedimento não explicam as diferenças registadas nos dados acústicos. Pelo contrário, quando se usa a biomassa algal e principalmente o resultado do 1º eixo da PCA de uma matriz biomassa algal – conteúdo em finos as diferenças observadas, entre as áreas com diferentes níveis de biomassa – conteúdo em finos, desaparecem. Estes resultados aliados aos obtidos na H₀1, sugerem que os 200kHz são sensíveis à presença desta macroalga.

Tabela 6 - Resultados da PERMANOVA para a H02, para os 200 kHz e para os 3 níveis de biomassa/conteúdo em finos; gl - graus de liberdade; SQ - soma dos quadrados; MS - média dos quadrados. Ar(Se) - áreas aninhadas nos tipos sedimentares; Lo (Ar) - locais aninhados nas áreas; Re - resíduos; n.s. - não significativo.

Fonte	gl	SQ	MQ	Pseudo-F	P
Teste global					
Ar	2	2740.30	1370.20	8.61	0.014
Lo(Ar)	3	477.72	159.24	5.64	0.0001
Res	18	507.95	28.22		
Total	23	3726			
Granulometria como covariável					
Cov	1	1676.80	1676.80	13.52	0.0001
Ar	2	1206.90	603.45	6.89	0.0124
Lo(Ar)	3	364.46	121.49	4.32	0.0006
Res	17	477.80	28.11		
Total	23	3726			
Conteúdo em finos como covariável					
Cov	1	1844.9	1844.9	15.66	0.0001
Ar	2	1047.9	523.97	6.22	0.0115
Lo(Ar)	3	354.63	118.21	4.20	0.0010
Res	17	478.54	28.15		
Total	23	3726			
Biomassa algal como covariável					
Cov	1	2478.70	2478.70	27.69	0.0001
Ar	2	484.91	242.45	2.73	0.0708 (n.s.)
Lo(Ar)	3	285.10	95.04	3.39	0.0032
Res	17	477.30	28.08		
Total	23	3726			
Biomassa algal e conteúdo em finos como covariável					
Cov	1	2485	2485	18.78	0.0001
Ar	2	365.16	182.58	1.82	0.186 (n.s.)
Lo(Ar)	3	394.78	131.59	4.65	0.0012
Res	17	481.09	28.30		
Total	23	3726			

Os resultados obtidos para os 50 e 200 kHz para os níveis de Biomassa – conteúdo em finos (baixo e elevado) são apresentados na tabela 7. Os resultados foram similares aos encontrados na análise para esta hipótese nula (referentes apenas aos 200 kHz), neste caso para ambas as frequências existem diferenças entre os dados acústicos para este factor (área). Quando são usados a

granulometria e o conteúdo em finos como covariáveis estas diferenças não desaparecem, apesar de no caso dos 50 kHz o valor obtido ($p=0.046$) ser um valor de fronteira para a significância, enquanto que no caso dos 200 kHz as diferenças não são justificadas minimamente por estes descritores. Isto indica que os 50 kHz são mais sensíveis à estrutura sedimentar que os 200 kHz.

Ao introduzir-se a biomassa algal como covariável, esta justifica eficazmente as diferenças entre áreas no caso dos 200 kHz ($p=0.1977$), ao invés no caso dos 50 kHz que, apesar do valor apresentado ser não significativo ($p=0.053$), este volta a ser um valor de fronteira para a significância. Isto indica uma maior sensibilidade por parte dos 200 kHz à presença das macroalgas, confirmado quando se usa o resultado do 1º eixo do PCA da matriz Biomassa – conteúdo em finos como covariável, apesar de o factor em causa deixar de ser significativo para ambas as frequências, o valor de p associado ao pseudo-F é muito mais alto para os 200 kHz (tabela 7). Na figura 13 está representada uma análise de ordenação (NMDS) relativos aos dados sedimentares e acústicos (50 e 200 kHz) dos três níveis de biomassa – conteúdo em finos (baixo, médio e elevado). Denota-se uma separação clara entre os dados sedimentares e acústicos entre os três níveis, apoiando os resultados obtidos pela PERMANOVA.

Tabela 7 - Resultados da PERMANOVA para a H02, para ambas as frequências (50 e 200 kHz), para 2 níveis de biomassa/conteúdo em finos (Elevado e Baixo); gl - graus de liberdade; SQ - soma dos quadrados; MS - média dos quadrados Ar(Se) - áreas aninhadas nos tipos sedimentares; Lo (Ar) - locais aninhados nas áreas; Re – resíduos; n.s.- não significativo.

Fonte	50 kHz					200 kHz				
	gl	SQ	MQ	Pseudo-F	P	gl	SQ	MQ	Pseudo-F	P
Teste global										
Ar	1	1836.30	1836.30	15.22	0.008	1	1697.40	1697.40	9.09	0.037
Lo(Ar)	2	241.37	120.68	3.94	0.002	2	373.47	186.74	6.24	0.001
Res	12	367.33	30.61			12	359.15	29.93		
Total	15	2445				15	2430			
Granulometria como covariável										
Cov	1	1752.20	1752.20	16.16	0.0002	1	1525	1525	16.31	0.0004
Ar	1	170.22	170.22	3.09	0.046	1	457.79	457.79	9.66	0.005
Lo(Ar)	2	184.64	92.32	3.01	0.007	2	159.17	79.59	3.04	0.016
Res	11	337.94	30.72			11	288.02	26.18		
Total	15	2445				15	2430			
Biomassa algal como covariável										
Cov	1	1490.90	1490.90	10.77	0.0004	1	1754.10	1754.10	15.92	0.0003
Ar	1	418.25	418.25	3.86	0.053(n.s.)	1	166.43	166.43	1.90	0.1977 (n.s.)
Lo(Ar)	2	244.98	122.49	4.63	0.001	2	195.02	97.51	3.41	0.0119
Res	11	290.84	26.44			11	314.46	28.59		
Total	15	2445				15	2430			
Biomassa algal e conteúdo em finos como covariável										
Cov	1	1783.30	1783.30	12.11	0.0003	1	1785.30	1785.30	10.75	0.002
Ar	1	113.50	113.50	1.59	0.2192 (n.s.)	1	40.23	40.23	0.50	0.697 (n.s.)
Lo(Ar)	2	259.25	129.63	4.94	0.0007	2	292.40	146.20	5.15	0.004
Res	11	288.90	26.26			11	312.03	28.37		
Total	15	2445				15	2430			

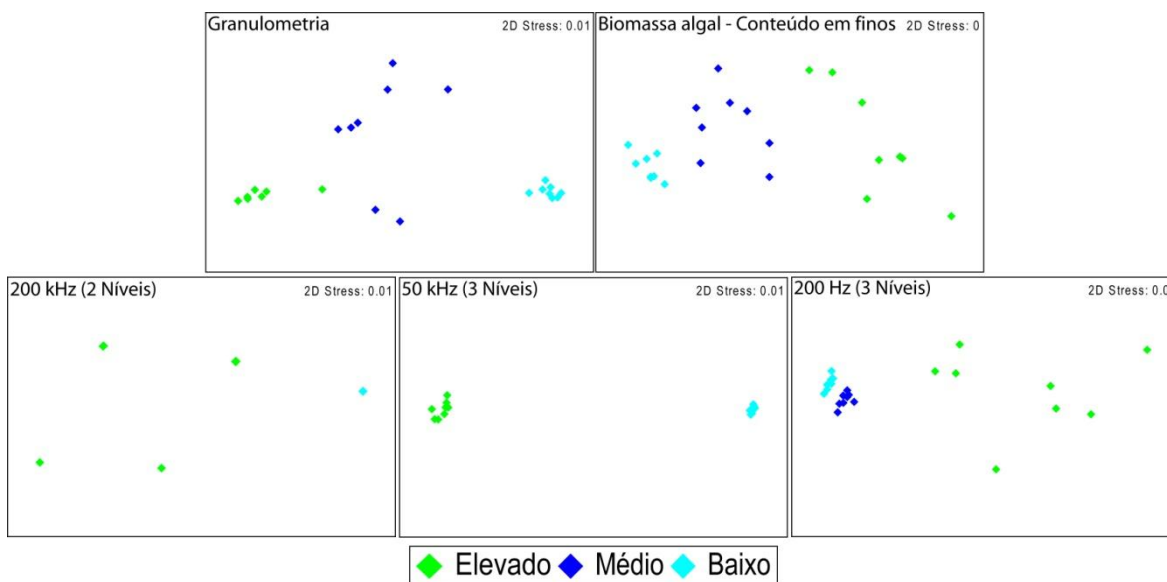


Figura 13 - Diagramas de ordenação (NMDS) dos dados sedimentares e acústicos (50m e 200 kHz) para 3 níveis de biomassa algal – conteúdo em finos relativos aos locais de amostragem com cobertura algal. Os três níveis correspondem às três áreas de estudo: elevado=LP, Médio=MCB e baixo= MCA.

3.4 Correlação entre os dados acústicos e as covariáveis usadas nos desenhos experimentais

A relação entre o resultado do 1º eixo do PCA dos dados acústicos (50 kHz com dois níveis do factor biomassa algal/conteúdo sedimentar em finos e 200 kHz com dois e três níveis) e as covariáveis usadas no modelo é mostrada no gráfico da figura 14. Todos os gráficos são acompanhados pelo coeficiente de correlação, que revela que a maior correlação para ambas as frequências é observada com o valor do 1º eixo da PCA da biomassa algal e do conteúdo em finos. Isto indica que ambas as frequências são sensíveis e bem relacionadas com esta variável combinada destes dois descritores. Outra dado retirado desta análise é de que os 200kHz estão mais aptos para o uso em estudos dedicados às macroalgas, enquanto que os 50 kHz devem ser usados em estudos que procurem discriminar fundos com diferentes tipos sedimentares, sendo isto revelado pelas maiores correlações apresentadas entre os 200kHz e a biomassa algal, e no caso dos 50 kHz com o conteúdo em finos do sedimento.

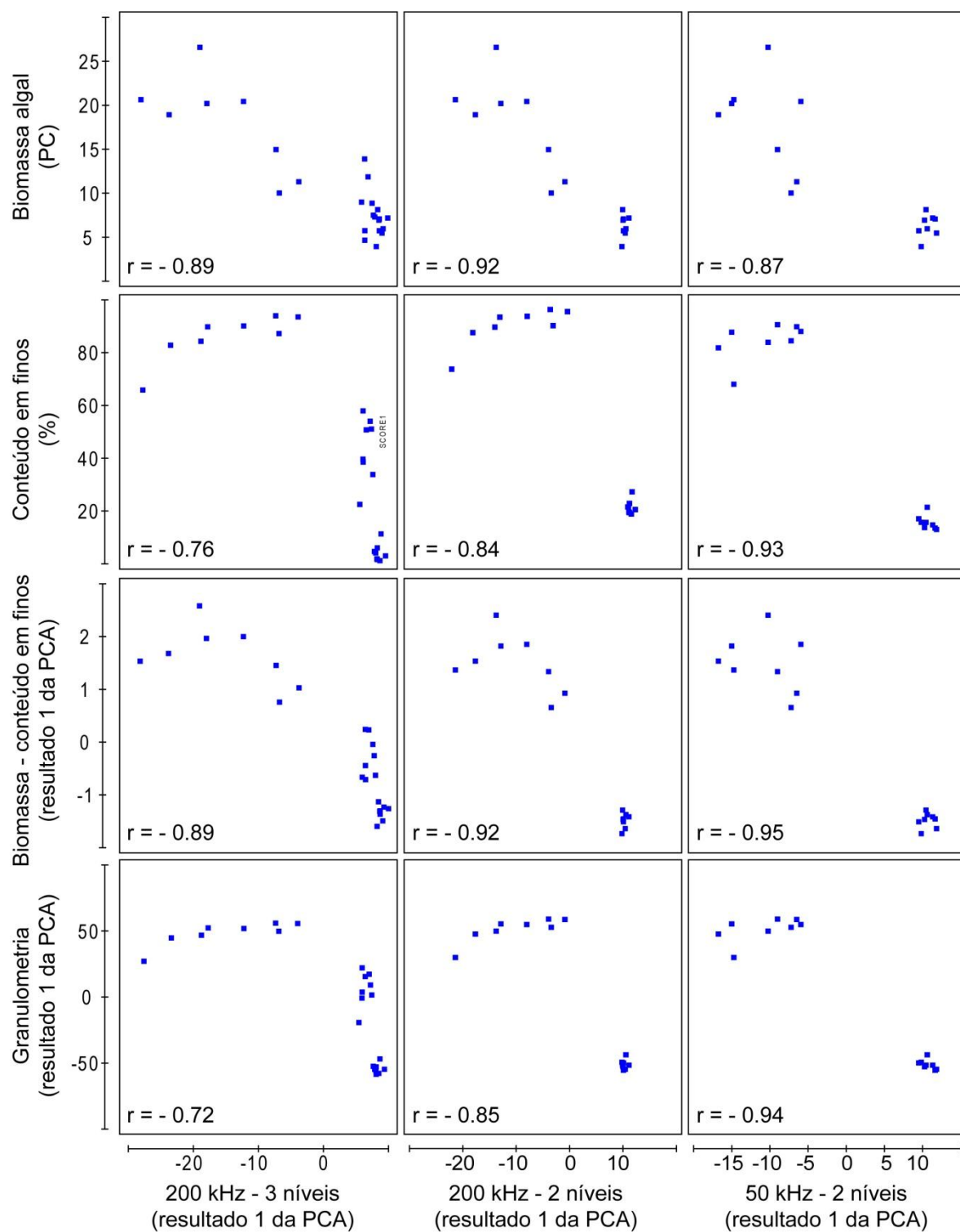


Figura 14 – Relação entre o resultado do 1º eixo de uma PCA por local dos dados acústicos (50 e 200 kHz) e as covariáveis usadas no desenho experimental (biomassa algal, conteúdo em finos, biomassa – conteúdo em finos e granulometria); r – coeficiente de correlação.

4 Discussão

Diversos estudos prévios demonstraram a capacidade dos métodos acústicos de feixe simples para discriminar fundos marinhos caracterizados por diferentes tipos sedimentares (Hamilton *et al.*, 1999; Freitas *et al.*, 2003; Hewitt *et al.*, 2004; Wienberg e Bartholomä , 2005). Contudo, poucos estudos foram realizados com o intuito de caracterizar a cobertura vegetal subaquática utilizando estes sistemas acústicos, (Hutin *et al.*, 2005; Moyer *et al.*, 2005; Riegl e Purkis, 2005; Freitas *et al.*, 2008). Para evidenciar ainda mais a importância do presente estudo acresce o facto de que para áreas de águas pouco profundas os estudos também serem muito escassos (Riegl *et al.*, 2005; Preston *et al.*, 2006; Freitas *et al.*, 2008). O sistema de discriminação de fundos usado neste estudo (QTC VIEW, Série V) foi desenvolvido de modo que se pudesse fazer a amostragem em áreas com cerca de 1m de profundidade. Ao contrário da maior parte dos estudo envolvendo o QTC VIEW onde se utiliza a classificação por classes, um dos pontos interessantes deste trabalho foi o facto de se ter usado a matriz original dos dados acústicos (ficheiro FFV), que normalmente não está disponível, nos estudos estatísticos. Isto foi conseguido através da criação de uma aplicação que permitiu a passagem do ficheiro ASCII para ficheiro CSV.

O presente estudo foi desenvolvido no Mar Menor a pouca profundidade, em áreas com diferentes tipos sedimentares (duas de areia e uma de vasa) e diferentes coberturas de vegetação (com e sem cobertura). Esta lagoa é quase totalmente coberta pela macroalga *C. prolifera*, que ao longo dos anos levou ao recuo da espécie *C. nodosa* para zonas de muito pouca profundidade junto à costa. Isto impossibilitou o estudo acústico dos padrões desta erva marinha, como era objectivo do nosso estudo inicialmente.

Três níveis de biomassa - conteúdo em finos foram definidos através da correlação entre a biomassa e o conteúdo em finos. Este descritor (biomassa – conteúdo em finos) foi usado como factor nos testes de hipóteses, correspondendo cada nível a um local de estudo (elevado - LP; médio - MCA; baixo - MCB). Esta relação já era esperada devido à diferença na quantidade em finos das amostras de diferentes locais.

Foi realizado um teste sobre os dados granulométricos do sedimento correspondentes à área LP3, antes e depois da remoção das macroalgas da área

para criação de uma área vasosa sem cobertura macroalgal. Este teste revelou que não existiam diferenças significativas entre estes dois conjuntos de amostras, provando que, apesar da remoção das algas arrastar algum do sedimento superficial, o sedimento superficial não se alterou. Isto sugere que nesta zona a camada superficial de vasa é bastante espessa, tal como era de esperar devido à densa cobertura macroalgal presente.

Foram observadas diferenças significativas, para ambas as frequências, nas assinaturas acústicas de áreas sem cobertura macroalgal com diferentes tipos sedimentares, que foram justificadas pelas diferenças granulométricas. Isto demonstrou que ambas as frequências são sensíveis à estrutura física do sedimento. No decorrer da segunda hipótese nula foram testados os conjuntos acústicos de ambas as frequências (50 e 200 kHz) de áreas com diferentes níveis do factor biomassa - conteúdo em finos. No primeiro estudo somente para o conjunto de dados dos 200 kHz para os três níveis, revelou que o conjunto de sinais acústicos das diferentes zonas também era diferente, no entanto a diferente granulometria dos sedimentos pode funcionar como factor de máscara. No entanto, estas diferenças são justificadas pela biomassa e pela variável composta biomassa - conteúdo em finos e não pelas variáveis físicas do sedimento, indicando que os 200 kHz são sensíveis à cobertura vegetal. O que veio a ser reforçado pelo segundo teste da segunda hipótese nula, que revelou que ambas as frequências são sensíveis para a presença da macroalga, apesar de os 200 kHz serem muito mais sensíveis.

Os resultados alcançados estão de acordo com estudos realizados anteriormente para zonas de pouca profundidade (Freitas *et al.*, 2008), onde se demonstra que os 50 kHz são influenciados pela coluna sedimentar, enquanto os 200 kHz provavelmente reflectem as diferenças nas camadas mais superficiais do sedimento. Estes resultados apoiam um estudo desenvolvido por Riegl *et al.* (2005), onde foi colocada a hipótese de que a maior sensibilidade dos 50 kHz para com as diferenças sedimentares, em relação aos 200 kHz, é devido à sua maior energia acústica e que assim passa através da vegetação interagindo com o sedimento, sendo conseqüentemente mais influenciado por este. De acordo com Preston *et al.* (2006) os 200 kHz conseguiram distinguir fundos não cobertos

dos cobertos com vegetação. Além disto, num estudo realizado com o objectivo de detecção de biótopos de corais (Riegl e Purkis, 2005), com base no fundamento da física de que a superfície abrangida de uma superfície estatisticamente rugosa é inversamente proporcional à abertura do ângulo do transdutor, sugeriu-se que devido à pequena abertura do ângulo do transdutor aquando da amostragem realizada com os 200 kHz, esta frequência produz uma maior reflexão do eco, sendo assim uma boa ferramenta na detecção de corais, macroalgas e ondulações na areia.

Com estes resultados podemos afirmar a potencialidade do sistema acústico de discriminação de fundos QTCVIEW série V para mapear a vegetação submersa, independentemente das características sedimentares. Apesar disto é sempre necessário a realização de amostragem sedimentar, para eliminar o factor que pode influenciar na análise adjacente às características do sedimento. No presente estudo este factor estava presente, mas como foi testada a sua influência sobre as diferenças acústicas, pode-se dizer que este problema foi contornado com sucesso.

Apesar de ser admissível que abaixo de um certo nível de biomassa este sistema não seja capaz de identificar a vegetação, devido à obtenção destes resultados com uma quantidade de dados limitados, pode-se dizer que este sistema tem um grande potencial na modelação da biomassa da macroalga *C. prolifera* com base numa amostragem acústica com a frequência de 200 kHz.

Os resultados do estudo apresentados nesta dissertação estão aceites para publicação na revista ICES Journal of Marine Science (Quintino *et al.*, 2010).

5 Bibliografia

Anderson, M. J., Gorley, R. N., e Clarke, K. R. 2008. PERMANOVA+ for PRIMER: Guide to software and statistical methods. Edited by University of Auckland and PRIMER-E: Plymouth, 214 pp.

Austoni, M., Giordani, G., Viaroli P., e Zaldívar, J.M. 2006. Application of specific exergy to macrophytes as an integrated index of environmental quality for coastal lagoons. *Ecological Indicators*, 7: 229-238.

Boström, C., Jackson, E. L., e Simenstad, C. A. 2006. Seagrass landscapes and their effects on associated fauna: a review. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 68: 383-403.

Clarke, K. R., e Gorley, R. N. 2006. PRIMER v6: User Manual/Tutorial. PRIMER-E: Plymouth, 190 pp.

Clarke, K.R., e Warwick, R. M. 2001. Change in Marine Communities: An Approach to Statistical Analysis and Interpretation, 2nd edition. PRIMER-E: Plymouth, UK, 172 pp.

Collins, W. T., e Rhynas, K. P. 1998. Acoustic seabed classification using echo sounders: operational considerations and strategies. *Canadian Hydrographic Conference '98*, 384-390.

Deker, A. G., Brando, V. E., e Anstee, J. M. 2005. Retrospective seagrass change detection in a shallow coastal tidal Australian lake. *Remote Sensing of Environment*, 97: 415-433.

Doeglas, D.J. 1968. Gain size indices, classification and environment. *Sedimentology*, 10: 8-82.

Freitas, R., Rodrigues, A. M., Morris, E., Perez-Llorens, J. L., e Quintino, V. 2008. Single-beam acoustic ground discrimination of shallow water habitats: 50 kHz or 200 kHz frequency survey? *Estuarine Coastal and Shelf Science*, 78: 613-622.

Freitas, R., Sampaio, L., Oliveira, J., Rodrigues, A.M., e Quintino, V. 2006. Validation of soft bottom benthic habitats identified by single-beam acoustics. *Marine Pollution Bulletin*, 53: 72-79.

Freitas, R., Silva, S., Quintino, V., Rodrigues, A. M., Rhynas, K., e Collins, W.T. 2003. Acoustic seabed classification of marine habitats: studies in the Western Portuguese coastal shelf. *ICES Journal of Marine Science*, 60: 600-609.

Frohn, R.C., Hinkel, K. M., e Eisner, W.R. 2005. Satellite remote sensing classification of thaw lakes and drained thaw lake basins on the North Slope of Alaska. *Remote Sensing of Environment*, 97: 116-126.

García, P., Zapico, E., e Colubi, A. 2009. An angiosperm quality index (AQI) for Cantabrian estuaries. *Ecological Indicators*, 9: 856-865.

Gleason, A.C.R. 2009. Single-beam acoustic seabed classification in coral reef environments with application to the assessment of grouper and snapper habitat in the upper Florida Keys, USA. Tese de doutoramento, Universidade de Miami, 173pp.

Gullström, M., Lunden B., Bodin, M. , Kangwe, J., Öhman, M.C. , Mtolera, M.S.P., e Björk, M. 2006. Assessment of changes in the seagrass-dominated submerged vegetation of tropical Chwaka Bay (Zanzibar) using satellite remote sensing. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 67: 399-408.

Hamilton, L.J, Mulhearn, P.J., e Poeckert, R. 1999. Comparison of RoxAnn and QTC-View acoustic bottom classification system performance for the Cairns area, Great Barrier Reef, Australia. *Continental Shelf Research*, 19: 1577-1597.

Hewit, J. E., Thrush, S. F., Legendre, P., Funnel, G. A., Ellis, J., e Morrison, M. 2004. Mapping of marine soft-sediment communities: integrated sampling for ecological interpretation. *Ecological Applications*, 14: 1203-1216.

Hutin, E., Simrad, Y., e Archambault, P. 2005. Acoustic detection of a scallop bed from a single-beam echosounder in the St Lawrence. *ICES Journal of Marine Science*, 62: 966-983.

Irlandi, E. A., Orlando, B. A., e Ambrose Jr., W. G. 1999. Influence of seagrass habitat patch size on growth and survival of juvenile bay scallops, *Argopecten irradians concentricus* (Say). *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 235: 21-43.

Juanes, J.A., Guinda, X, Puente A., e Revilla, J.A. 2008. Macroalgae, a suitable indicator of the ecological status of coastal rocky communities in the NE Atlantic. *Ecological Indicators*, 8: 351-359.

Kenny, A. J., Cato, I., Desprez, M., Fader, G., Schüttenhelm, R. T. E., e Side J. 2003. An overview of seabed mapping technologies in the context of marine habitat classification. *ICES Journal of Marine Science*, 60(3): 411-418.

Larsonneur, C. 1977. La cartographie des depots meubles sur le plateau continental français: méthode mise au point et utilisée en Manche. *Journal Recherche Océanographique*, 2: 33 – 39.

Moyer, R. P., Riegl, B., Banks, K., e Dodge, R. E. 2005. Assessing the accuracy of acoustic seabed classification for mapping coral reef environments in South Florida (Broward County, USA). *Revista de Biologia Tropical*, 53: 175-184.

Perez-Ruzafa, A., e Marcos, C., 2005b. Pressures on Mediterranean coastal lagoons as a consequence of human activities. *Flooding and Environmental Challenges for Venice and its Lagoon: State of Knowledge*, Cambridge University Press, 545-555.

Pérez-Ruzafa, A., García-Charton, J. A., Barcala, E., e Marcos, A. 2006. Changes in benthic fish assemblages as a consequence of coastal works in a costal lagoon: the Mar Menor (Spain, Western Mediterranean). *Marine Pollution Bulletin*, 53: 107-120.

Perez-Ruzafa, A., Hegazi, M.I., Perez-Ruzafa, I.M., e Marcos, C. 2007. Differences in spatial and seasonal patterns of macrophyte assemblages between a coastal lagoon and the open sea. *Marine Environmental Research*, 65: 291-314.

Perez-Ruzafa, A., Marcos, C., e Gilabert, J. 2005a. The ecology of the Mar Menor coastal lagoon: a fast changing ecosystem under human pressure. Coastal lagoons. Ecosystem processes and modeling for sustainable use and development, CRC Press Boca Raton, 392-422.

Perez-Ruzafa, A., Marcos-Diego C., e Ros J.D. 1991. Environmental and biological changes related to recent human activities in the Mar Menor (SE of Spain). Marine Pollution Bulletin, 23: 747-751.

Perez-Ruzafa, A., Ros, J.D., Marcos, C., Ballester, R., e Perez-Ruzafa, I. 1989. Distribution and biomass of the macrophyte beds in a hypersaline coastal lagoon (the Mar Menor, SE Spain), and its recent evolution following major environmental changes. International Workshop on Posidonia Beds, 2: 49-62. G.I.S. Posidonie Publisher, Marseille.

Phinn, S., Roelfsema, C., Dekker, A., Brando, V., e Anstee, J. 2008. Mapping seagrass species, cover and biomass in shallow waters: An assessment of satellite multi-spectral and airborne hyper-spectral imaging systems in Moreton Bay (Australia). Remote Sensing of Environment, 112: 3413-3425.

Preston, J. M., e Collins, W. T. 2000. Bottom Classification in Very Shallow Water by High-Speed Data Acquisition. Proceedings of MTS/IEEE Oceans 00' Conference, Providence, USA, pp. 1277-1282.

Preston, J., Inouchi, Y., e Shioya, F. 2006. Acoustic classification of submerged aquatic vegetation. Proceedings of the Eighth European Conference on Underwater Acoustics, ECUA 2006, Edited by Jesus S.M and Rodríguez, O.C., CINTAL, Carvoeiro, Portugal, 6 pp.

Prohić, E., e Huračić, M. 1989. Heavy metals in sediments – Problems concerning determination of anthropogenic influence. Study in Krka river estuary, eastern Adriatic coast, Yugoslavia. Environ. Geol. Water Sci., 13: 145-151.

QTC IMPACT, 2004. QTC IMPACT™ User Manual (v3.40), DMN-MIMP-0001-R03, Release May 2004, Revision 3D, Quester Tangent Corporation, Marine Technology Centre, Sidney, B.C., Canada, 147 pp.

Quintino, V., Freitas, R., Mamede, R., Ricardo, F., Rodrigues, A. M., Mota, J., Pérez-Ruzafa, A., e Marcos, C. 2010. Remote sensing of underwater vegetation using single-beam acoustics. *ICES Journal of Marine Science*, 67: 000–000.

Quintino, V., Rodrigues A.M., e Gentil, F. 1989. Assessment of macrozoobenthic communities in the lagoon of Óbidos, western coast of Portugal. *Scientia Marina*, 53: 645-654.

Riegl, B. M., e Purkis, S. J. 2005. Detection of shallow subtidal corals from IKONOS satellite and QTC View (50, 200 kHz) single-beam sonar data (Arabian Gulf; Dubai, UAE). *Remote Sensing of Environment*, 95: 96-114.

Riegl, B. M., Moyer, R. P., Morris, L. J., Virnstein, R. W., e Purkis, S. J. 2005. Distribution and seasonal biomass of drift macroalgae in the Indian River Lagoon (Florida, USA) estimated with acoustic seafloor classification (QTCView, Echoplus). *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 326: 89-104.

Ruitton, S., Javel F., Culioli J., Meinesz A., Pergent G. e Verlaque M. 2005. First assessment of the *Caulerpa racemosa* (Caulerpales, Chlorophyta) invasion along the French Mediterranean coast. *Marine Pollution Bulletin*, 50: 1061–1068.

Schories, D., Pehlke, C., e Selig, U. 2009. Depth distributions of *Fucus vesiculosus* L. and *Zostera marina* L. as classification parameters for implementing the European Water Framework Directive on the German Baltic coast. *Ecological Indicators*, 9: 670-680.

Stafford, S. B., e Bell, S. S. 2005. Space competition between seagrass and *Caulerpa prolifera* (Forsskaal) Lamouroux following simulated disturbances in Lassing Park, FL. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 333: 49-57.

Szalay, P.G., e MacConnaughey, R.A. 1999. The effect of the slope and vessel speed on the performance of a single beam acoustic seabed classification system. *Fisheries Research*, 56:99-112.

Taplin, K.A., Irlandi E.A., e Raves R. 2005. Interference between the macroalga *Caulerpa prolifera* and the seagrass *Halodule wrightii*. *Aquatic Botany* 83: 175–186.

Vaugelas, J., Meinsez, A., Antolic, B., Ballesteros, E., Belsher, T., Cassar, N., Ceccherelli, G., Cinelli, F., Cottalorda, J., Orestano, C. F., Grau, A. M., Jaklin, A., Morucci, C., Relini, M., Sandulli, R., Span, A., Tripaldi, G., Van Klaveren, P., Zavodnik, N., e Zuljevic, A. 1998. Standardization proposal for the mapping of *Caulerpa taxifolia* expansion in the Mediterranean Sea. *Oceanologica Acta*, 22: 85-94.

Watt, J. V. 1999. Seabed Classification - A New Layer for the Marine GIS. Quester Tangent Corporation, 9 pp.

Whitfield, A. K. 1989. The benthic invertebrate community of a southern cape estuary: structure and possible food sources. *Transactions Royal Society of South Africa*, 47: 159-179.

Wienberg, C., e Bartholomä, A. 2005. Acoustic seabed classification in a coastal environment (outer Weser estuary, German Bight) – a new approach to monitor dredging and dredge spoil disposal. *Continental Shelf Science*, 25: 1143-1156.

Zharikov, Y., Skilleter, G.A., Loneragan, N.R., Taranto T., e Cameron, B.E. 2005. Mapping and characterising subtropical estuarine landscapes using aerial photography and GIS for potential application in wildlife conservation and management. *Biological Conservation*, 125: 87-100.

Anexo I – Tabela de granulometria de todos os replicados

Replicados	>2	1,00	0,50	0,25	0,13	0,06	<0,063	Mediana
LP1 a	0,00	4,04	3,99	7,13	11,36	6,53	65,87	4,00
LP1 b	0,00	2,55	2,51	4,24	5,21	1,95	82,82	4,00
LP1 c	0,00	1,56	2,55	2,13	2,29	1,68	89,80	4,00
LP1 d	0,00	2,02	4,04	3,78	3,67	1,82	84,33	4,00
LP2 a	0,47	0,39	0,75	2,13	3,59	2,60	90,14	4,00
LP2 b	0,00	2,02	1,16	1,34	3,42	4,40	87,24	4,00
LP2 c	0,00	0,55	0,85	1,48	2,03	1,12	93,98	4,00
LP2 d	0,00	0,75	1,44	1,49	1,92	0,69	93,54	4,00
LP3 a	0,00	2,18	2,82	2,64	4,38	2,11	85,78	4,00
LP3 b	3,63	0,68	0,43	1,03	1,85	1,07	91,33	4,00
LP3 c	0,00	2,58	3,04	2,56	2,68	1,96	86,71	4,00
LP3 d	0,00	0,80	1,65	7,67	4,18	1,38	83,68	4,00
LP3B a	0,00	1,17	1,91	5,14	6,31	1,57	83,50	4,00
LP3B b	0,00	0,77	1,63	1,78	2,25	1,11	92,36	4,00
LP3B c	1,92	0,56	0,51	1,16	1,55	1,16	93,14	4,00
LP3B d	0,00	2,82	3,75	6,78	7,38	3,86	74,97	4,00
MCA1 a	0,00	2,67	5,56	46,99	43,37	1,01	0,49	1,89
MCA1 b	0,42	2,01	5,29	48,67	42,59	0,93	0,38	1,87
MCA1 c	0,00	1,46	5,10	47,86	44,38	1,19	0,08	1,91
MCA1 d	0,00	2,17	42,37	50,38	4,82	0,42	0,21	1,11
MCA2 a	0,00	4,93	9,77	42,68	40,95	1,42	0,28	1,83
MCA2 b	0,00	4,44	25,88	56,30	11,30	0,79	1,36	1,35
MCA2 c	0,19	3,21	7,73	38,39	45,63	3,13	1,85	2,01
MCA2 d	0,16	4,45	8,73	43,29	40,84	2,01	0,58	1,85
MCA3 a	0,00	0,61	0,72	1,24	16,12	42,60	38,60	3,73
MCA3 b	0,00	0,78	0,38	1,66	13,80	29,23	54,05	4,00
MCA3 c	0,00	0,44	0,26	0,41	13,79	51,00	33,86	3,69
MCA3 d	0,00	1,65	1,18	2,49	12,22	31,28	50,78	4,00
MCA4 a	0,00	0,25	0,19	0,44	34,21	42,10	22,57	3,35
MCA4 b	0,00	0,49	1,10	24,84	16,82	5,45	51,07	4,00
MCA4 c	0,00	0,78	1,08	34,18	15,51	8,63	39,73	2,90
MCA4 d	0,00	1,19	0,56	1,15	11,09	28,32	57,94	4,00
MCB1 a	0,11	1,01	4,48	23,39	69,14	1,70	0,25	2,30
MCB1 b	0,00	0,85	4,54	21,85	70,98	1,61	0,10	2,32
MCB1 c	0,00	1,67	17,04	54,93	25,82	0,33	0,22	1,57
MCB1 d	0,00	1,29	29,61	52,61	16,20	0,21	0,32	1,36
MCB2 a	0,00	0,97	3,51	24,60	69,57	1,23	0,18	2,30
MCB2 b	0,01	0,68	2,95	24,11	70,77	1,25	0,23	2,31
MCB2 c	0,00	1,16	11,06	62,77	24,34	0,31	0,82	1,60
MCB2 d	0,04	0,68	16,28	63,89	18,24	0,28	0,64	1,52
MCB3 a	0,00	2,85	5,74	24,28	61,53	3,73	1,93	2,28
MCB3 b	0,00	2,37	4,74	24,54	63,95	3,15	1,28	2,29
MCB3 c	0,00	1,76	4,03	22,09	66,55	3,84	1,70	2,33
MCB3 d	0,00	2,90	3,67	16,55	61,38	4,04	11,40	2,44
MCB4 a	0,00	2,99	4,41	19,16	64,15	5,13	4,16	2,37
MCB4 b	0,00	2,69	4,62	22,83	61,58	5,16	3,10	2,32
MCB4 c	0,00	1,60	2,55	17,90	64,23	7,66	6,11	2,44
MCB4 d	0,00	3,20	4,26	20,89	60,56	6,34	4,76	2,36

Anexo II – Tabela de biomassa algal de todos os replicados

Replicados	Peso seco (g)	Peso seco livre de cinzas (g)
LP1 a	35,1	20,64
LP1 b	40,79	18,92
LP1 c	43,07	20,2
LP1 d	76,15	26,59
LP2 a	37,33	20,43
LP2 b	36,02	10,02
LP2 c	26,18	14,96
LP2 d	21,08	11,3
LP3 a	0	0
LP3 b	0	0
LP3 c	0	0
LP3 d	0	0
MCA1 a	0	0
MCA1 b	0	0
MCA1 c	0	0
MCA1 d	0	0
MCA2 a	0	0
MCA2 b	0	0
MCA2 c	0	0
MCA2 d	0	0
MCA3 a	12,09	5,73
MCA3 b	25,64	8,86
MCA3 c	18,73	7,29
MCA3 d	22,09	11,86
MCA4 a	18,85	8,98
MCA4 b	15,41	7,5
MCA4 c	21,74	13,89
MCA4 d	16,98	4,65
MCB1 a	0	0
MCB1 b	0	0
MCB1 c	0	0
MCB1 d	0	0
MCB2 a	0	0
MCB2 b	0	0
MCB2 c	0	0
MCB2 d	0	0
MCB3 a	16,55	6,93
MCB3 b	12,55	5,47
MCB3 c	14,78	7,06
MCB3 d	15,93	5,96
MCB4 a	14,2	8,13
MCB4 b	16,69	7,17
MCB4 c	11,44	5,72
MCB4 d	8,89	3,93

Anexo III – Artigo onde estão publicados os resultados apresentados nesta dissertação

Remote sensing of underwater vegetation using single-beam acoustics

Victor Quintino, Rosa Freitas, Renato Mamede, Fernando Ricardo, Ana Maria Rodrigues, Jorge Mota, Ángel Pérez-Ruzafa, and Concepción Marcos

Quintino, V., Freitas, R., Mamede, R., Ricardo, F., Rodrigues, A. M., Mota, J., Pérez-Ruzafa, Á., and Marcos, C. 2010. Remote sensing of underwater vegetation using single-beam acoustics. – ICES Journal of Marine Science, 67: 000–000.

A single-beam, acoustic, ground-discrimination system (QTC VIEW, Series V) was used to study the distribution of underwater macrophytes in a shallow-water coastal system, employing frequencies of 50 and 200 kHz. The study was conducted in Mar Menor, SE Spain, where the expansion of *Caulerpa prolifera* has contributed to the silting up of the superficial sediments. A direct relationship was identified between algal biomass and sediment-fines content. Acoustic information on sediment grain size and data on algal biomass were obtained in muddy and sandy sediments, including vegetated and non-vegetated seabed. Non-vegetated muddy areas were created by diving and handpicking the algae. The multivariate acoustic data were analysed under the null hypotheses that there were no acoustic differences between bare seabeds with contrasting superficial sediment types or among low, medium, and high algal-biomass areas, having in mind that grain size can act as a confounding factor. Both null hypotheses were rejected, and the results showed that 200 kHz was better than 50 kHz in distinguishing cover levels of algal biomass. The relationship between the 200-kHz acoustic data and algal biomass suggests utility in modelling the latter using the former.

Keywords: acoustic methods, algal cover, remote sensing, sediment types.

Received 1 May 2009; accepted 17 September 2009.

V. Quintino, R. Freitas, R. Mamede, F. Ricardo, and A. M. Rodrigues: Centre for Environmental and Marine Studies, Department of Biology, University of Aveiro, 3810-193 Aveiro, Portugal. J. Mota: Bioglobal S.A., Avenida Miguel Bombarda 61, 4^o-E, Lisboa, Portugal. Á. Pérez-Ruzafa and C. Marcos: Department of Ecology and Hydrology, Faculty of Biology, University of Murcia, 30 100 Murcia, Spain. Correspondence to V. Quintino: tel: +351 234 370769; fax: +351 234 372587; e-mail: victor.quintino@ua.pt.

Introduction

Benthic macrophytes include both attached macroalgae (seaweeds) and seagrasses (rooted marine plants), and they can form dense canopies in shallow coastal areas. They are widely recognized as an important coastal benthic structuring element, providing a number of valuable ecosystem services, including habitat for a variety of organisms (Whitfield, 1989; Irlandi *et al.*, 1999; Boström *et al.*, 2006). Many studies have revealed the importance of macrophytes to other communities, such as invertebrate macrofauna (Bowden *et al.*, 2001; Sfriso *et al.*, 2001; Hovel and Lipcius, 2002; Rueda and Salas, 2003; Eklöf *et al.*, 2005; Unsworth *et al.*, 2007). The effects of macrophytes on other communities could be beneficial, by increasing ecological niches, providing shelter for juveniles, and aiding the retention of larvae (López De La Rosa *et al.*, 2006), or detrimental, when associated with eutrophication. Sánchez-Moyano *et al.* (2001) reported the impoverishment of bivalve populations as a result of the development of anoxic conditions near the seabed caused by the development of dense algal cover, as well as an overall decrease in species diversity associated with subsequent organic enrichment. Moreover, the spreading of certain macrophyte species, as in Mar Menor, Southeast Spain, where *Caulerpa prolifera* has taken much of the seabed area previously occupied by *Cymodocea nodosa*, can alter the species composition of the fish and cause the stocks of some species to decrease (Pérez-Ruzafa *et al.*, 1991, 2006).

Considering their worldwide distribution, vital ecosystem services, and their ability to structure the benthic invertebrate and fish communities, there is value in developing cost-effective methods to study the distribution of macrophytes at large spatial scales. Studies investigating the distribution of underwater vegetation usually involve the direct collection of samples using grabs or by diving to classify the species and to assess biomass (Pérez-Ruzafa *et al.*, 1989, 2006, 2008). Although such methodology provides the most accurate representation, it is time-consuming and hence more suitable for small areas. That is why remote-sensing methods for the study of aquatic vegetation are becoming more common, mainly for mapping purposes. Depending on the apparatus used, these methods can be subdivided into optical and acoustic, and both require validation through ground-truthing.

Optical remote-sensing methods, such as aerial photography and satellite imagery, are generally used to map the distribution of macrophyte beds. Aerial photography can allow for the examination of extensive seagrass landscapes at a fine spatial resolution, but it can be expensive and have limited ability to discriminate species. Remote sensing using the latest generation of multi- or hyperspectral, fine spatial resolution (<5 m²) satellite or airborne platforms (e.g. CASI, IKONOS, or Quickbird), are cost-effective at mapping shallow-water marine biotopes including those

dominated by seagrass (Dekker *et al.*, 2005; Phinn *et al.*, 2008). Fornes *et al.* (2006) showed that vast meadows of the seagrass *Posidonia oceanica* situated within shallow coastal areas of the Mediterranean could be distinguished successfully from non-vegetated seabed using IKONOS imagery. Other authors have considered underwater videography to be more time-efficient than satellite imagery, particularly in deep water out of the range of areal platforms, but that method is less practical for covering very large areas and turbid waters (Norris *et al.*, 1997). In fact, all optical-based methods for habitat surveillance will be ineffective or substantially less useful in waters of greater depth with high optical-attenuation coefficients. This can be the case in many coastal areas inhabited by benthic macrophytes, so such methods are then at a disadvantage.

Acoustic remote-sensing methods are less affected by water turbidity and water depth, which makes them potentially useful in differentiating bare from vegetated seabed and mapping these important benthic biotopes. Sidescan sonar has been used for scientific purposes in the marine environment (Fish and Carr, 1990; Brown *et al.*, 2002; Kenny *et al.*, 2003), including distinguishing between bare sediment and vegetated seabed (Siljeström *et al.*, 1996; Pasqualini *et al.*, 1998; Piazzini *et al.*, 2000; Leriche *et al.*, 2006; Lefebvre *et al.*, 2009). Further, multibeam echosounders have been applied in quantifying the spatial distribution of seagrass beds (Komatsu *et al.*, 2003a, b) with the advantage, compared with other acoustic methods such as sidescan sonar, of mapping large continuous strips of the seabed as well as acquiring data on the topography. There are few examples in the literature of the use of acoustic ground-discrimination systems based on single-beam echosounders (AGDS) for studying underwater vegetation, and there is a tendency for wider use of swath systems. AGDS, such as that used here (QTC VIEW), have been used successfully in discriminating benthic habitats characterized by different superficial sediment types (Freitas *et al.*, 2003a), although their utility in studying the distribution of coral biotopes (Moyer *et al.*, 2005; Riegl and Purkis, 2005) and aquatic vegetation (Riegl *et al.*, 2005; Preston *et al.*, 2006) has also been reported. Work conducted by Preston *et al.* (2006) in the Seto Inland Sea, Japan, revealed the ability of the acoustic system to distinguish bare seabed from the areas covered by two species of seaweed (*Sargassum fulvellum* and *Ecklonia kurome*). Riegl *et al.* (2005), conducting field studies and work in a controlled environment in Florida (USA), reported an acoustic distinction between seagrass, sparse algae, and dense algae. Those authors suggested that the sensitivity of the acoustic system to sediment type may hinder the classification of macrophyte cover, leading them to question whether acoustic methods can diagnose the presence of macrophytes. If a large proportion of the acoustic echo originates from the sediment, then the information left to diagnose the macrophytes may be of little use. In fact, no acoustic study of underwater vegetation has been able to demonstrate specifically whether the areas covered by vegetation and those with bare seabed have the same type of sediment. If that is not the case, then the superficial sediment may act as a confounding factor in the distinction of the acoustic signals between the vegetated and bare seabed. This issue is addressed herein. The field experiment was carried out in Mar Menor, a shallow-water coastal area in which the alga *C. prolifera* has increased its distribution in recent times and today covers most of the seabed (Pérez-Ruzafa *et al.*, 1989, 1991, 2006). The work was done in areas of contrasting superficial sediment types and used two

different echosounder frequencies (50 and 200 kHz). Two null hypotheses were tested: H_01 , no significant acoustic differences exist between bare sandy and muddy areas; H_02 , no significant acoustic differences exist among areas of low, medium, and high algal biomass.

Material and methods

Mar Menor is a hypersaline coastal lagoon located on the Mediterranean coast of SE Spain (37°42'00"N 00°47'00"W; Figure 1). It has a total area of ~135 km² and mean and maximum water depths of ~3.6 and 6.0 m, respectively. Spatial and temporal variations in oceanographic conditions, nutrient concentration, and macrophyte assemblages were studied by Pérez-Ruzafa *et al.* (2005, 2008). Water salinity ranges from 38 to 51 and temperature from 11°C to 30°C, depending on location and season. Muddy substrata dominate, mainly in the central area of the lagoon, but also on some protected shores. Muddy areas are covered by a dense meadow of the macroalga *C. prolifera*, the distribution of which expanded significantly in the early 1970s, following the enlargement and deepening of the channel El Estacio, the main lagoon inlet currently (Figure 1; Pérez-Ruzafa *et al.*, 1991). Sandy areas are located in the shallow areas on the margins and in the small bays surrounding the islands, where sparse patches of the phanerogame *C. nodosa* grow.

The study was conducted on sandy and muddy substrata, located, respectively, at Molino de la Calcetera (MC) and along the shore close to La Puntica (Lo Pagán, LP; Figure 1), between 1.5 and 2.5 m deep. The acoustic survey conducted in MC included sites with and without *C. prolifera*. The superficial sediment in the MC area is mainly sandy, and the *Caulerpa* meadows are less dense than those located on the muddy seabed. Sites with and without algae were replicated in two areas, A and B. In the study area close to LP, the seabed is muddy, covered everywhere by the algae, which form dense meadows in some locations. It was intended to replicate the experimental work in both muddy and sandy areas, but this was not possible because no bare muddy areas could be found. Therefore, an area of non-vegetated seabed at LP had to be created artificially by handpicking the macroalgae. This was performed by divers operating in an area of ~100 m² (5 × 20 m; Figure 1). All fieldwork, i.e. handpicking the algae, acoustic surveying with both frequencies, and ground-truth sampling for sediments and algal biomass, was carried out over a period of 10 d.

Acoustic data

The acoustic survey was run with the seabed-classification system QTC VIEW Series V connected to a dual-frequency echosounder, Hondex 7300II (50 and 200 kHz). The base settings of the echosounder were transmit power 600 W, pulse duration 265 µs, and 7 pings s⁻¹ for both frequencies. Beam width for 50 kHz was 28°, and for 200 kHz it was 10°. For both frequencies, the QTC VIEW used automatic gain control. Positional information was logged continuously via a Differential Global Position System with the acoustic data allowing post-processing in a Geographic Information System (GIS). Each survey frequency was recorded separately, in consecutive surveys. The whole acoustic survey spanned 4 d. Because of the small size of the survey vessel, the transducer was mounted at the side of the boat and as far as possible from the turbulence created by the engine. The survey speed did not exceed 2 knots, and each area was surveyed repeatedly (Figure 1), given the small size of the survey areas and to

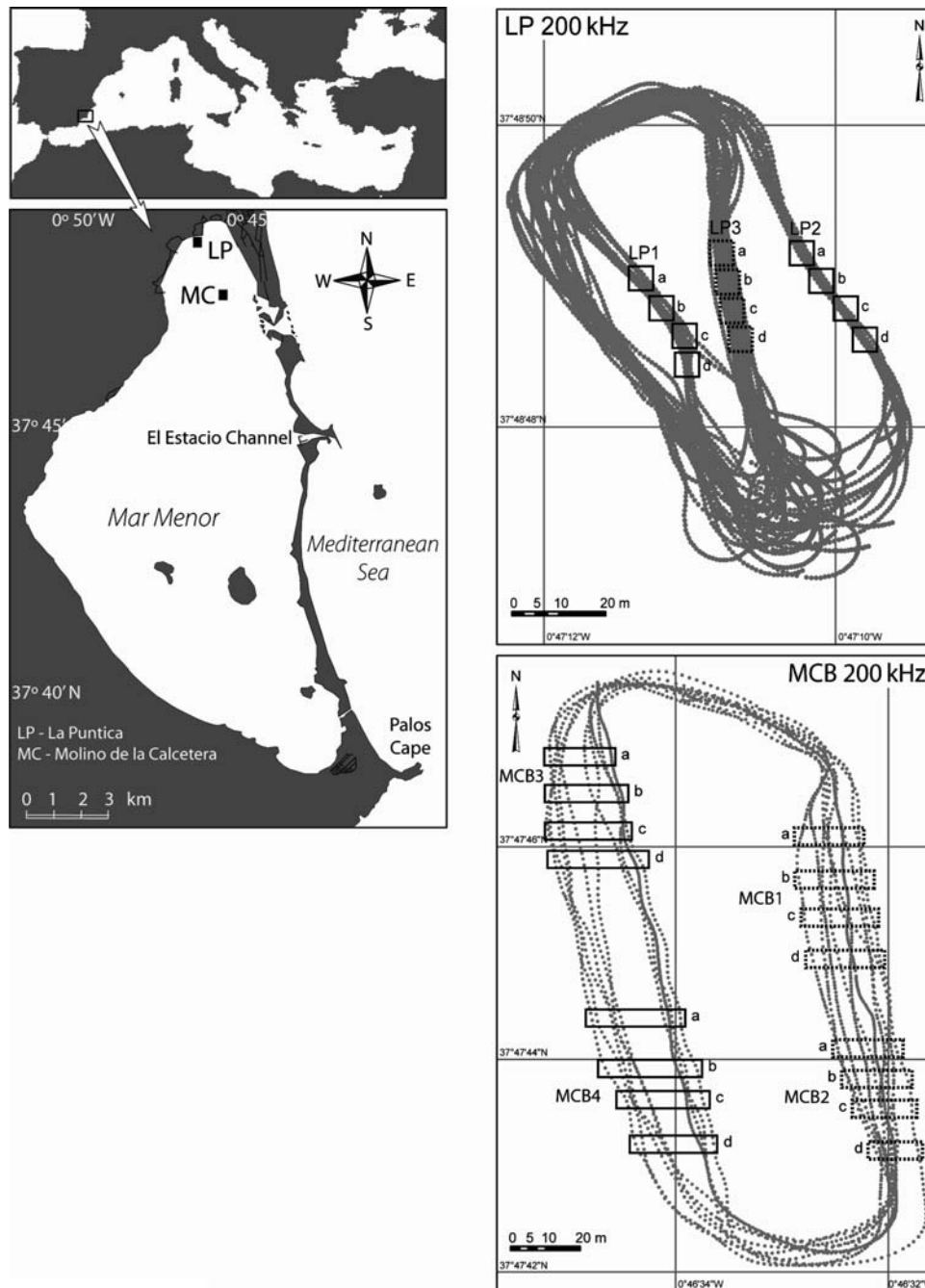


Figure 1. Mar Menor, showing the location of the study areas, Molino de La Calcetera (MC), and La Puntica (Lo Pagán; LP). As an example, the 200 kHz acoustic-survey lines are shown for LP and MC, area B. The squares and rectangles identify the site replicates for the acoustic-sampling area, the sediment grain size, and the algae biomass. Dashed squares and rectangles correspond to bare seabed.

acquire as many echoes as possible while avoiding ping collision. The minimum water depth that could be sampled safely to avoid it was ~ 1 m. Nevertheless, all sampling areas were located between 1.5 and 2.5 m deep.

Superficial sediments and algae

The areas covered by the acoustic survey were sampled for superficial-sediment grain size and *C. prolifera* biomass. At each area in MC (MCA and MCB), four sampling sites were established, two on non-vegetated seabed (MCA1, MCA2,

MCB1, MCB2) and two on seabed covered by macroalgae (MCA3, MCA4, MCB3, MCB4), a total of eight sampling sites. At each site, four replicates (a–d; Figure 1) were taken for grain size and for algal biomass. At LP, three sampling sites were established (LP1, LP2, LP3), LP3 located between the other two and selected for removal of macroalgae. At each site, four replicate samples were taken for both descriptors, except at LP3, where sediment samples were taken before and immediately after handpicking the algae to test whether sediment disturbance would significantly alter grain size.

Table 1. Sediment grain size, expressed as a percentage of total sediment DW, median value, in units of phi (ϕ), algal biomass, expressed in grammes of AFDW (AFDW, g), and sediment classification.

Sites	Grain-size class (mm)						Median (ϕ)	Biomass (AFDW, g)	Sediment classification
	1.000	0.500	0.250	0.125	0.063	<0.063			
MCA1 bare	2.08	14.58	48.47	33.79	0.89	0.29	1.70	0.00	Clean medium sand
MCA2 bare	4.26	13.03	45.17	34.68	1.84	1.02	1.76	0.00	Clean medium sand
MCA3 vegetated	0.87	0.63	1.45	13.98	38.53	44.32	3.86	8.435	Very silty, very fine sand
MCA4 vegetated	0.67	0.73	15.15	19.41	21.13	42.82	3.56	8.755	Very silty, very fine sand
MCB1 bare	1.21	13.92	38.20	45.53	0.96	0.22	1.89	0.00	Clean medium sand
MCB2 bare	0.87	8.45	43.84	45.73	0.76	0.47	1.93	0.00	Clean medium sand
MCB3 vegetated	2.47	4.55	21.86	63.35	3.69	4.08	2.33	6.355	Clean fine sand
MCB4 vegetated	2.62	3.96	20.20	62.63	6.07	4.53	2.37	6.238	Clean fine sand
LP1 vegetated	2.54	3.27	4.32	5.63	3.00	80.71	>4.00	21.588	Mud
LP2 vegetated	0.93	1.05	1.61	2.74	2.20	91.23	>4.00	14.178	Mud
LP3 vegetated	1.56	1.98	3.47	3.27	1.63	86.87	>4.00	–	Mud
LP3a bare	1.33	1.95	3.72	4.37	1.92	86.00	>4.00	0.00	Mud

The values per site correspond to the mean of four replicates.

All samples of sediment and macroalgae were obtained by scuba divers immediately after the final acoustic survey with both frequencies. The algae (leaves and root systems) were handpicked from an area of 20 × 20 cm and placed in bags of 1-mm mesh. The sediment samples were collected with a corer or a shovel, depending on sediment compactness, and retained in plastic bags.

Analysis of sediment grain size and algal biomass

Sediment grain-size analysis was performed by wet- and dry-sieving, according to the methodology described by Quintino *et al.* (1989): (i) chemical destruction of organic matter with H₂O₂; (ii) measurement of total sediment dry weight (DW), followed by chemical dispersion with tetra-sodium pyrophosphate (30 g l⁻¹) and wet-sieving through a screen of 63 μ m mesh; (iii) measurement of the second DW of the material left on the 63 μ m screen; (iv) dry-sieving of the sand fraction, i.e. particles with diameter from 63 μ m to 2 mm, and the gravel fraction, particles with diameter > 2 mm, through a battery of sieves spaced at size intervals of 1 ϕ , where $\phi = -\log_2$ particle diameter, expressed in millimetres. The silt and clay fraction, fine particles, with diameter < 63 μ m, was expressed as a percentage of the total sediment DW.

For each sample, the quantity of sediment in each grain-size class was expressed as a percentage of the whole sediment DW. The results were used to calculate the median value, corresponding to the diameter that has half the grains finer and the other half coarser. Given that no detailed grain-size analysis was performed for the fines fraction, i.e. particles with diameter < 63 μ m, the median could not be calculated for the samples with > 50% fines content. These sediment samples were classified as mud. Sands, sediments with < 50% fines, were classified using the median, expressed in units of phi (ϕ), according to the Wentworth scale (Doeglas, 1968): very fine sand (median between 3–4 ϕ); fine sand (2–3 ϕ); medium sand (1–2 ϕ); coarse sand (0–1 ϕ). The final classification adopted the description “clean”, “silty”, or “very silty”, with fines ranging from 0 to 5%, from 5 to 25%, and from 25 to 50%, respectively, of total sediment DW (Quintino *et al.*, 1989). For each sample, the sediment data matrix includes six grain-size classes (>1, 0.5–1.0, 0.25–0.50, 0.125–0.250, 0.063–0.125, and <0.063 mm).

Benthic macrophytes were separated from the sediment, cleaned, and dried in air. All the organisms attached to the macrophytes were also removed. *Caulerpa prolifera* was the only true

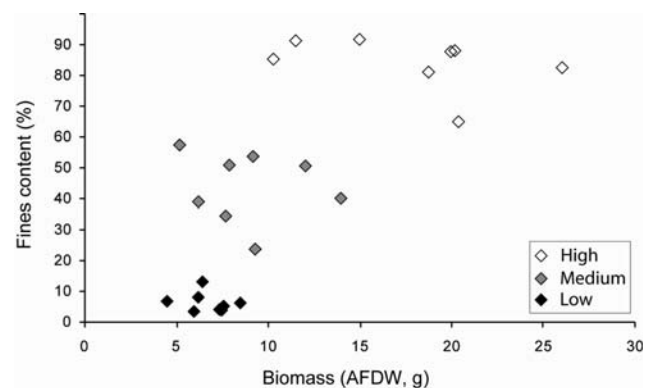


Figure 2. The relationship between sediment-fines content (percentage of total sediment, DW) and algal biomass (AFDW).

benthic macroalgae, that is, permanently attached to the sediment, encountered in abundance in the study area. After species-level identification, the standing-crop biomass of *C. prolifera* was measured as DW and ash-free DW (AFDW). DW determination was made by drying to constant weight (48 h) in an oven at 80°C, and AFDW was determined subsequently by burning in a furnace at 500°C for 5 h. Weight was calculated with a precision of ± 0.01 g. All data analysis was performed using AFDW.

Analysis of acoustic data

QTC VIEW Series V records the pressure waves that arrive at the transducer (the echo) and generates data in full waveform (fwf file) and/or based on the amplitude of the full waveform, called the envelope (env file). The post-processing software QTC IMPACT™ loads both files. For our purpose, only the fwf files were used because they represent the whole echo, although no real difference should be expected from the analysis of either file.

The 50 and 200 kHz acoustic datasets were processed separately by QTC IMPACT which, using a series of algorithms, describes each echo as 166 variables (the Full Feature Vectors, FFV file). This file was quality-controlled inside IMPACT, and inspected for the descriptors depth and positioning of each record. Suspicious FFVs were excluded from further analysis. Analysis using QTC IMPACT generally proceeds by inputting the FFV

Table 2. PERMANOVA table of results for the test of the null hypothesis that no acoustic (50 and 200 kHz) significant differences exist between non-vegetated seabed characterized by different sediment types.

Source	d.f.	SS	MS	Pseudo-F	p-value
Main test for sediment grain size					
Se	1	32 969	32 969.00	72.69	0.005
Ar(Se)	1	701.08	701.08	8.51	0.059 (n.s.)
Si[Ar(Se)]	2	164.68	82.34	0.11	0.964 (n.s.)
Res	15	11 505	766.99		
Total	19	45 340			
Main test for sediment-fines content					
Se	1	23 390	23 390	50 119	0.0001
Ar(Se)	1	0.39	0.39	0.658	0.509 (n.s.)
Si[Ar(Se)]	2	1.17	0.59	0.0398	0.963 (n.s.)
Res	15	221.28	14.75		
Total	19	23 613			
Main test for 200 kHz					
Se	1	2 259.60	2 259.60	69.17	0.002
Ar(Se)	1	46.39	46.39	3.84	0.097 (n.s.)
Si[Ar(Se)]	2	24.16	12.08	0.25	0.918 (n.s.)
Res	15	728.86	48.59		
Total	19	3 059			
Main test for 50 kHz					
Se	1	1 485.50	1 485.50	23.72	0.020
Si(Se)	1	62.62	62.62	2.30	0.087 (n.s.)
Res	9	244.90	27.21		
Total	11	1 793			
200 kHz with sediment grain size as covariate					
Cov	1	2 219.70	2 219.70	63.14	0.0004
Se	1	65.08	65.08	1.33	0.250 (n.s.)
Ar(Se)	1	49.22	49.22	3.80	0.085 (n.s.)
Si[Ar(Se)]	2	23.84	11.92	0.24	0.928 (n.s.)
Res	14	701.18	50.08		
Total	19	3 059			
200 kHz with sediment-fines content as covariate					
Cov	1	2 230.8	2 230.8	67.955	0.0001
Se	1	58.10	58.10	1.171	0.290 (n.s.)
Ar(Se)	1	46.695	46.695	3.981	0.093 (n.s.)
Si[Ar(Se)]	2	23.46	11.73	0.235	0.932 (n.s.)
Res	14	699.98	49.998		
Total	19	3 059			
50 kHz with sediment grain size as covariate					
Cov	1	1 464.60	1 464.60	23.94	0.001
Se	1	28.77	28.77	0.94	0.441 (n.s.)
Si(Se)	1	61.32	61.32	2.06	0.116 (n.s.)
Res	8	238.30	29.79		
Total	11	1 793			
50 kHz with sediment-fines content as covariate					
Cov	1	1 471.20	1 471.20	23.593	0.002
Se	1	22.20	22.20	0.740	0.558 (n.s.)
Si(Se)	1	62.71	62.71	2.117	0.111 (n.s.)
Res	8	236.92	29.62		
Total	11	1 793			

d.f., degrees of freedom; SS, sum of squares; MS, mean square; Se, sediment type; Ar(Se), areas nested in sediment type; Si(Se), sites nested in sediment type; Si[Ar(Se)], sites nested in areas and sediment types; Res, residuals; Cov, covariate; n.s., non-significant.

file to principal component analysis (PCA), the output file of which only includes, for each echo, the scores on the three first axes. This output file is then submitted to classification analysis to obtain acoustic classes. The novelty introduced by this work in the acoustic-data analysis is the direct use of the FFV file. To access this file, it was saved in ASCII format and written out

using a Microsoft® Windows® net-software application converter (v1.0.8.45), created using a Microsoft® Visual® c# 2005 developing tool. Because of the very large number of records in the FFV ASCII file, special attention was given to the processing algorithm, to minimize CPU processing time and memory usage. This application converts the file to a CSV format that will open in Microsoft® Office Excel®. The excel file can be saved as a dbf (database file) and exported into a GIS environment, or other data-analysis software. The application converter developed for this study is available on request from the authors.

Within the GIS environment, the position of the acoustic-survey lines, the grain size, and the biomass samples were visualized, and the acoustic data were assigned to ground-truth samples, by selecting an area around them, named the acoustic-sampling area (Figure 1). The data matrix representing each of these included between 40 and 50 records on average. For each ground-truth sample, the final acoustic-data matrix corresponded to the mean value of those records for each of the individual 166 variables. These data were used in the analysis described below.

Experimental design

The grain size and the acoustic-data matrices (50 and 200 kHz) were submitted to hypothesis testing using PERMANOVA (permutational multivariate analysis of variance; Anderson *et al.*, 2008) from the software PRIMER v6 (Clarke and Gorley, 2006), following the calculation of Euclidean distance matrices among samples. The pseudo-*F* values in the PERMANOVA main tests and the *t*-statistic in the pairwise comparisons were evaluated in terms of significance among different groups for the factors tested. A factor is defined as a categorical variable that identifies the groups we wish to compare. Values of $p \leq 0.05$ revealed that groups differed significantly. Analysis of the acoustic data also included sediment grain size and algal biomass as covariates. For grain size, the site scores of the first axis from a PCA of the grain-size data were selected as the covariate.

The data were also submitted to non-metric, multidimensional scaling (NMDS), which was used as an unconstrained ordination method to visualize multivariate patterns from each dataset. NMDS diagrams are accompanied by a stress value that quantifies the mismatch between the distances among datapoints in the Euclidean distance matrix and in the ordination diagram. Values < 0.10 are considered to represent the original distance matrix accurately (Clarke and Warwick, 2001).

Two null hypotheses were tested:

- H_01 : No significant acoustic differences exist between bare sandy- and muddy-seabed areas. Bare sandy-seabed areas were located in MC, and bare muddy-seabed areas were artificially created by diving and handpicking the algae in LP. At the non-vegetated site created, LP3, four sediment replicates were collected before and four immediately after removing the algae to test the null hypothesis that no significant differences in sediment grain size resulted from the activity. To test H_01 with the grain-size data and the 200 kHz data, a three-factor nested model was used, with sediment type as the fixed factor with two levels, such as mud and sand, areas as a random factor and nested in sediment (LP for mud, MCA and MCB for sand), and sites, also as a random factor and nested in areas and in sediment (LP3 for LP and mud; MCA1 and MCA2 for MCA and sand; MCB1 and MCB2 for MCB and sand). The model is

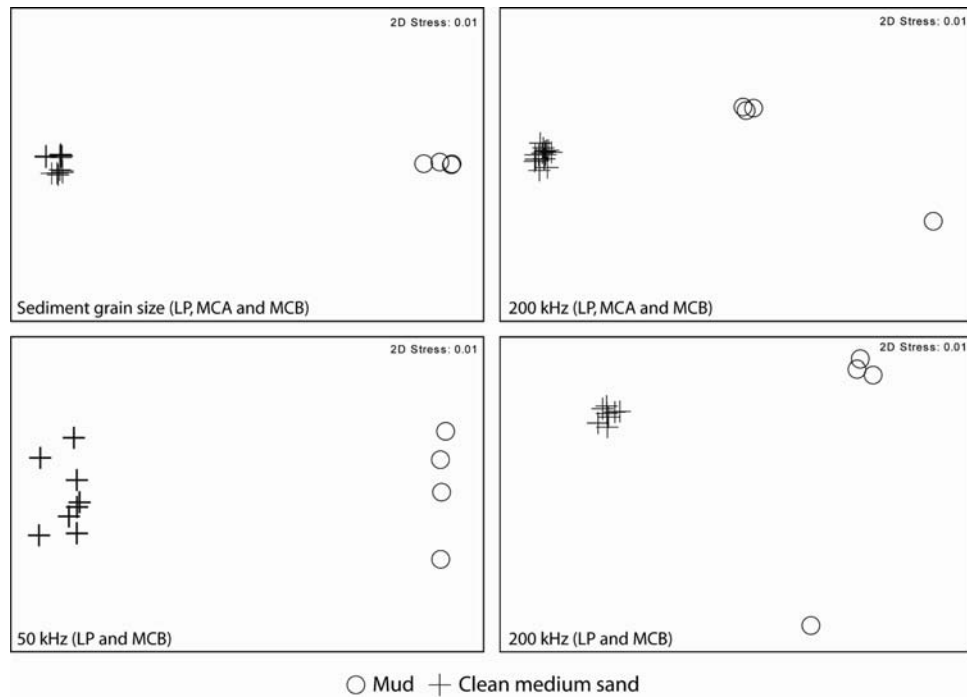


Figure 3. Ordination diagrams (NMDS) of the sedimentary and acoustic data (50 kHz and 200 kHz), obtained in the non-vegetated seabed areas in LP and MC, area A (MCA) and area B (MCB).

Table 3. PERMANOVA table of results for the test of the null hypothesis that no significant differences exist among low, medium, and high algal biomass/sediment-fines content areas: main tests and pairwise comparisons between levels.

Main test						Pairwise comparisons		
Source	d.f.	SS	MS	Pseudo-F	p-value	Source	t	p-value
Algal biomass and sediment-fines content								
Ar	2	37.23	18.62	18.44	0.004	High vs. medium	3.12	0.044
Si(Ar)	3	3.03	1.01	3.17	0.032	High vs. low	4.85	0.015
Res	18	5.74	0.32			Medium vs. low	33.36	0.0001
Total	23	46.00						
Sediment grain size								
Ar	2	47 134	23 567	53.04	0.0002	High vs. medium	4.07	0.016
Si(Ar)	3	1 333	444.33	1.99	0.086 (n.s.)	High vs. low	17.04	0.001
Res	18	4 009.1	222.73			Medium vs. low	5.81	0.004
Total	23	52 476						
Sediment-fines content								
Ar	2	26 686	13 343	176.88	0.0007	High vs. medium	7.98	0.014
Si(Ar)	3	226.3	75.44	0.96	0.437 (n.s.)	High vs. low	15.51	0.003
Res	18	1 421.7	78.98			Medium vs. low	50.23	0.0004
Total	23	28 334						

d.f., degrees of freedom; SS, sum of squares; MS, mean square; Ar, areas with low, medium, and high algal biomass/sediment-fines content; Si(Ar), sites nested in areas; Res, residuals; n.s., non-significant.

asymmetric because neither replicate sites nor areas could be obtained for the mud-sediment type. Each site was represented by four replicates. For the 50-kHz data, a simplified version of the model was used, with two factors, because no data could be obtained successfully in area MCA. The acoustic-data analysis was completed using sediment grain size as covariate.

- (ii) H_{02} : No significant acoustic differences exist among low, medium, and high algal-biomass areas. With the 200 kHz data, this null hypothesis was tested using a two-factor nested model, using algal biomass/sediment-fines content

as a fixed factor, and sites as a random factor and nested in the three levels, with two sites per level and four replicates per site: sites MCB3 and MCB4 for the level low; sites MCA3 and MCA4 for medium; sites LP1 and LP2 for the level high biomass/fines content. For the 50 kHz data, a simplification of this model was used, given that no data with that survey frequency could be available from the medium biomass/fines content level. The acoustic data were also analysed with covariates: algal biomass, sediment grain size, and the site scores on axis 1 of a PCA of the algal biomass/sediment-fines content data matrix.

Table 4. PERMANOVA table of results for the test of the null hypothesis that no 200 kHz acoustic differences exist among low, medium, and high algal biomass/sediment-fines content areas.

Source	d.f.	SS	MS	Pseudo-F	p-value
Main test					
Ar	2	2 740.30	1 370.20	8.61	0.014
Si(Ar)	3	477.72	159.24	5.64	0.0001
Res	18	507.95	28.22		
Total	23	3 726			
Sediment grain size as covariate					
Cov	1	1 676.80	1 676.80	13.52	0.0001
Ar	2	1 206.90	603.45	6.89	0.0124
Si(Ar)	3	364.46	121.49	4.32	0.0006
Res	17	477.80	28.11		
Total	23	3 726			
Sediment-fines content as covariate					
Cov	1	1 844.9	1 844.9	15.66	0.0001
Ar	2	1 047.9	523.97	6.22	0.0115
Si(Ar)	3	354.63	118.21	4.20	0.0010
Res	17	478.54	28.15		
Total	23	3 726			
Algal biomass as covariate					
Cov	1	2 478.70	2 478.70	27.69	0.0001
Ar	2	484.91	242.45	2.73	0.0708 (n.s.)
Si(Ar)	3	285.10	95.04	3.39	0.0032
Res	17	477.30	28.08		
Total	23	3 726			
Algal biomass and sediment-fines content as covariate					
Cov	1	2 485	2 485	18.78	0.0001
Ar	2	365.16	182.58	1.82	0.186 (n.s.)
Si(Ar)	3	394.78	131.59	4.65	0.0012
Res	17	481.09	28.30		
Total	23	3 726			

d.f., degrees of freedom; SS, sum of squares; MS, mean square; Ar, areas with low, medium, and high algal biomass/sediment-fines content; Si(Ar), sites nested in areas; Res, residuals; Cov, covariate; n.s., non-significant.

Results

Sediment grain size and algal biomass

Sediment grain-size descriptors and algal-biomass mean values for each sampling site are listed in Table 1. All sites studied at LP had muddy sediment with >80% fines content. At MC, the superficial sediment was sandy with variable fines content, and the sites with *C. prolifera* always had finer sediments with higher silt and clay content than the sites without vegetation, corresponding to clean medium sand, in both areas (A and B; Table 1). Figure 2 shows the sediment-fine-particles content and the biomass of the algae. The relationship is direct, and although the dispersion is greater with increasing values of the descriptors, there was a positive significant Spearman correlation ($\rho = 0.72$; $p < 0.01$). The samples obtained in the three areas with *C. prolifera*, LP, MCA, and MCB, established a gradient corresponding, respectively, to high, medium, and low algal biomass/sediment-fines content. These levels were considered subsequently to test whether the respective acoustic signatures would differ significantly.

Experimental design

H_{01} : No significant acoustic differences exist between bare sandy- and muddy-seabed areas

At the LP study area where the non-vegetated site was created, sediment samples were compared before and after removal of

the algae. The results indicated that the associated sediment disturbance did not alter grain size significantly (pseudo- $F = 0.134$; $p = 0.90$).

The main test results for H_{01} are listed in Table 2, and they allow similar conclusions for the grain-size data and for both two survey frequencies. There were no significant differences between sites nested in areas and in sediment types, or between areas nested in sediment types, but significant differences between sediment types. Using the sediment grain size or the sediment-fines content as covariates, the difference between sediment types was no longer significant for both survey frequencies. These results indicate that both 50 and 200 kHz frequencies were sensitive to the structural properties of the sediment and clearly distinguished muddy from sandy sediment. An ordination analysis of the sediment and acoustic data is presented in Figure 3. There is clear separation between sandy and muddy seabeds in terms of grain size and acoustics, as shown by the PERMANOVA results (Table 2).

H_{02} : No significant acoustic differences exist among low, medium, and high algal-biomass areas

These three algal-biomass levels are represented, respectively, by the sites sampled in the areas MCB, MCA, and LP. The main test results and pairwise comparisons between levels are listed in Table 3. For all datasets tested, the main factor was strongly significant, and the pairwise comparisons showed that all three levels were significantly different from each other. Given the rejection of the null hypothesis H_{01} , these sediment differences may act as a confounding factor in the test of null hypothesis H_{02} . The results for the 200 kHz survey, including all three levels of the main factor, are shown in Table 4, and they demonstrate that with this acoustic frequency, the main factor is significant in rejecting the null hypothesis H_{02} . Table 4 also shows its significance when several potentially confounding factors are introduced in the PERMANOVA model as covariates. Neither grain size nor fines content were able to eliminate the significance of the main factor. On the contrary, algal biomass alone and algal biomass together with the sediment-fines content, represented by the site scores on axis 1 of a PCA analysis for these two variables, eliminated the significance of the main factor (Table 4). Compared with the results obtained in the analysis of H_{01} , the 200-kHz survey frequency is clearly sensitive to the presence of the macroalgae.

Table 5 lists the PERMANOVA results obtained when using just the low and the high levels of the main factor for both acoustic frequencies. Sediment descriptors, i.e. grain size or fines content, were insufficient to eliminate the significance of the main factor, although with a borderline p -value of 0.05 for the 50-kHz data (Table 5). This suggests that 50 kHz is more sensitive to the structural properties of the sediment than 200 kHz. Algal biomasses eliminated the significance of the main factor for the 200-kHz survey, but not the 50-kHz survey (Table 5). The results indicate that 200 kHz is more sensitive to the presence and biomass of the macrophyte than 50 kHz. This is confirmed when introducing as covariate the site scores on axis 1 of a PCA of algal biomass together with fines content: the main factor is no longer significant for any of the survey frequencies, but the p -value associated with the pseudo- F statistic is much higher for 200 kHz (Table 5). An ordination analysis of the sedimentary and acoustic data (50 and

Table 5. PERMANOVA table of results for the test of the null hypothesis that no acoustic (50 and 200 kHz) differences exist between low and high algal biomass/sediment-fines content areas.

Source	50 kHz					200 kHz				
	d.f.	SS	MS	Pseudo-F	p-value	d.f.	SS	MS	Pseudo-F	p-value
Main test										
Ar	1	1 836.30	1 836.30	15.22	0.008	1	1 697.40	1 697.40	9.09	0.037
Si(Ar)	2	241.37	120.68	3.94	0.002	2	373.47	186.74	6.24	0.001
Res	12	367.33	30.61			12	359.15	29.93		
Total	15	2 445				15	2 430			
Sediment grain size as covariate										
Cov	1	1 752.20	1 752.20	16.16	0.0002	1	1 525	1 525	16.31	0.0004
Ar	1	170.22	170.22	3.09	0.046	1	457.79	457.79	9.66	0.005
Si(Ar)	2	184.64	92.32	3.01	0.007	2	159.17	79.59	3.04	0.016
Res	11	337.94	30.72			11	288.02	26.18		
Total	15	2 445				15	2 430			
Algal biomass as covariate										
Cov	1	1 490.90	1 490.90	10.77	0.0004	1	1 754.10	1 754.10	15.92	0.0003
Ar	1	418.25	418.25	3.86	0.053	1	166.43	166.43	1.90	0.1977 (n.s.)
Si(Ar)	2	244.98	122.49	4.63	0.001	2	195.02	97.51	3.41	0.0119
Res	11	290.84	26.44			11	314.46	28.59		
Total	15	2 445				15	2 430			
Algal biomass and sediment-fines content as covariate										
Cov	1	1 783.30	1 783.30	12.11	0.0003	1	1 785.30	1 785.30	10.75	0.002
Ar	1	113.50	113.50	1.59	0.2192 (n.s.)	1	40.23	40.23	0.50	0.697 (n.s.)
Si(Ar)	2	259.25	129.63	4.94	0.0007	2	292.40	146.20	5.15	0.004
Res	11	288.90	26.26			11	312.03	28.37		
Total	15	2 445				15	2 430			

d.f., degrees of freedom; SS, sum of squares; MS, mean square; Ar, areas with low and high algal biomass/sediment-fines content; Si(Ar), sites nested in areas; Res, residuals; Cov, covariate; n.s., non-significant.

200 kHz) representing low, medium, and high levels of algal biomass/sediment-fines content is displayed in Figure 4. There is clear separation between the three levels, in terms of grain size and acoustics, illustrating the PERMANOVA results just presented (Tables 3–5).

In Figure 5, the relationship is shown between the covariates used in the model and the site scores on axis 1 of a PCA of the acoustic data: 50 kHz with two levels of the algal biomass/sediment-fines content factor, and 200 kHz with two and three levels. All graphs are accompanied by their appropriate correlation coefficients. For both survey frequencies, the strongest relationship is with the site scores on axis 1 of a PCA of the algal biomass and sediment-fines content, demonstrating that both frequencies are sensitive and related to a variable combining the two descriptors. The relationship between each acoustic frequency and the individual variables is stronger with algal biomass for 200 kHz and with sediment-fines content for 50 kHz. This indicates that the 200 kHz frequency is potentially more appropriate for use in a survey dedicated to studying macrophytes, whereas 50 kHz would be more appropriate for a survey dedicated to studying superficial sediments. The strong correlation between the 200 kHz PCA1 scores and algal biomass provides good perspectives for future modelling aimed at predicting the biomass of *C. prolifera* from acoustic data.

Discussion

The work was conducted in Mar Menor, SE Spain, a shallow-water system with most of the seabed covered by the macroalgae *C. prolifera* (Pérez-Ruzafa *et al.*, 1991, 2008). Sampling took place at a seabed depth of 1.5–2.5 m and included areas characterized by contrasting superficial sediments (mud and clean sand),

with and without *C. prolifera*, and a range of algal biomass. *Caulerpa prolifera* has been described as able to alter the superficial sediment by trapping fine particles in the root system (Pérez-Ruzafa *et al.*, 1991). Our data and diving observations confirm this notion. In the MC area only, where the algae are patchy, a thin, superficial layer of finer sediment was observed beneath the algal patches. This was in contrast to the bare seabed found where no such accumulation of finer sediment was observed on the surface. As the distribution of the algae became less patchy, the seabed was covered homogeneously by a muddy layer beneath the algal cover. This layer was quite thick in the LP sites, where algal biomass per sampling area was greater. In fact, a direct relationship between algal biomass and sediment-fines content was demonstrated. It is therefore possible that the spatial spread of the algae could cause a progressive silting of the superficial sediment in Mar Menor, as suggested by Pérez-Ruzafa *et al.* (1991). Because the present work has also shown that the single-beam AGDS used in this work was effective at distinguishing sandy from muddy seabed, the grain-size alteration resulting from the silting of the superficial sediment could then be successfully used as a surrogate descriptor for the study of the spatial extent of *C. prolifera*. This is especially the case if a wider survey confirms that no muddy areas exist in Mar Menor without *C. prolifera*. Therefore, the seabed-coverage limitations of single-beam acoustic systems compared with swath systems can be compensated for by habitat predictive modelling of the data collected by them. Single-beam AGDS can be an effective alternative approach to remote-sensing acoustic surveys using multibeam systems, especially if the survey area is sufficiently homogeneous to preclude the need to cover a greater proportion of the bottom. In areas of high bottom heterogeneity, swath systems would be

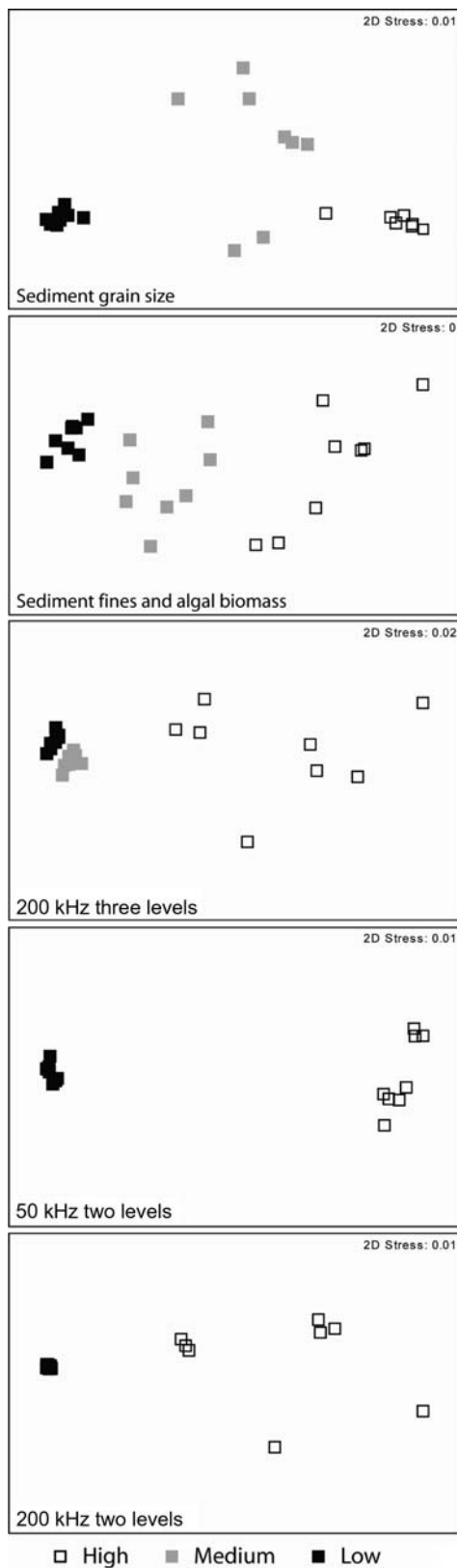


Figure 4. Ordination diagrams (NMDS) of the sedimentary and acoustic data (200 and 50 kHz) representing the low, medium, and high algal biomass/sediment-fines content levels for the bottom areas vegetated with *C. prolifera*. The three levels correspond to study areas: low, MC area B; medium, MC area A; high, LP.

more cost-effective because single-beam AGDS is not designed to produce extensive spatial coverage of the seafloor.

Several studies have shown the ability of the single-beam AGDS QTC VIEW Series V used in this work to distinguish different sediment types (Hamilton *et al.*, 1999; Freitas *et al.*, 2003b; Hewit *et al.*, 2004; Wienberg and Bartholomä, 2005). In each of these cases, the QTC VIEW's own data-analysis workflow was used. The work reported here proposes and uses a novel approach to analysing the data recorded by the QTC VIEW system, by working directly with the acoustic data matrix in which the echoes are described by 166 variables, the FFV file. The results obtained here concerning the ability of the system to distinguish sediments characterized by different grain size are similar to those of previous studies that used more conventional data analysis involving the identification and interpretation of acoustic classes. Moreover, although the QTC VIEW Series V can sample adequately in water as shallow as 1 m, studies from shallow-water systems are relatively uncommon (Hutin *et al.*, 2005; Moyer *et al.*, 2005; Riegl and Purkis, 2005). Our work has shown the ability of both survey frequencies, 50 and 200 kHz, to distinguish sediment types in very shallow depth, as indicated by the significant difference in the acoustic data acquired from bare mud and medium sand. This conclusion agrees partially with the results of previous studies conducted with the same acoustic system. Freitas *et al.* (2008) showed for the inner Bay of Cádiz, also a shallow-water system, a close relationship between the 50-kHz acoustic diversity and the superficial-sediment-type pattern, whereas the acoustic classes based in the 200 kHz survey could not be related to sediment types. Riegl and Purkis (2005), also working with both frequencies in a shallow coral-reef area in the Arabian Gulf, demonstrated that the 50-kHz acoustic-seafloor classification was able to distinguish between unconsolidated sand and hard seabed, whereas the 200-kHz survey only determined high rugosity (corals and ripples) and low rugosity (flat areas).

The experimental set-up here to test the ability of the two survey frequencies to distinguish a range of algal biomass cover levels can shed some light on this issue. Part of the relevance of the present study is that there are very few examples in the literature discussing the use of single-beam AGDS, and particularly QTC VIEW series V, for the study of underwater vegetation (Riegl *et al.*, 2005; Preston *et al.*, 2006). The results we obtained indicated that both frequencies were able to distinguish areas characterized by different algal biomass/sediment-fines content, but that the 200-kHz frequency was more sensitive to the presence and biomass of the macrophyte than 50 kHz. Freitas *et al.* (2008) also showed that the 200 kHz acoustic diversity obtained in the inner Bay of Cádiz could reflect not only the influence of the sediment but also that of biological features including underwater vegetation. Moreover, Riegl *et al.* (2005), in a study on the drift macroalgae in the Indian River Lagoon, FL, USA, found that 50 kHz acoustic diversity was in better agreement with the sedimentary diversity than 200 kHz. Our results suggest that this is possibly a result of the higher acoustic energy passing through the vegetation layer to interact primarily with the substratum, so that most of the 50 kHz acoustic signals may be more strongly influenced by the underlying sediment than the overlying vegetation, which can then be sampled better by a frequency of 200 kHz. Preston *et al.* (2006) also revealed the ability of the 200-kHz survey frequency to distinguish bare from vegetated seabed.

Overall, we conclude that the AGDS QTC VIEW Series V is potentially a valuable tool for the remote assessment of underwater

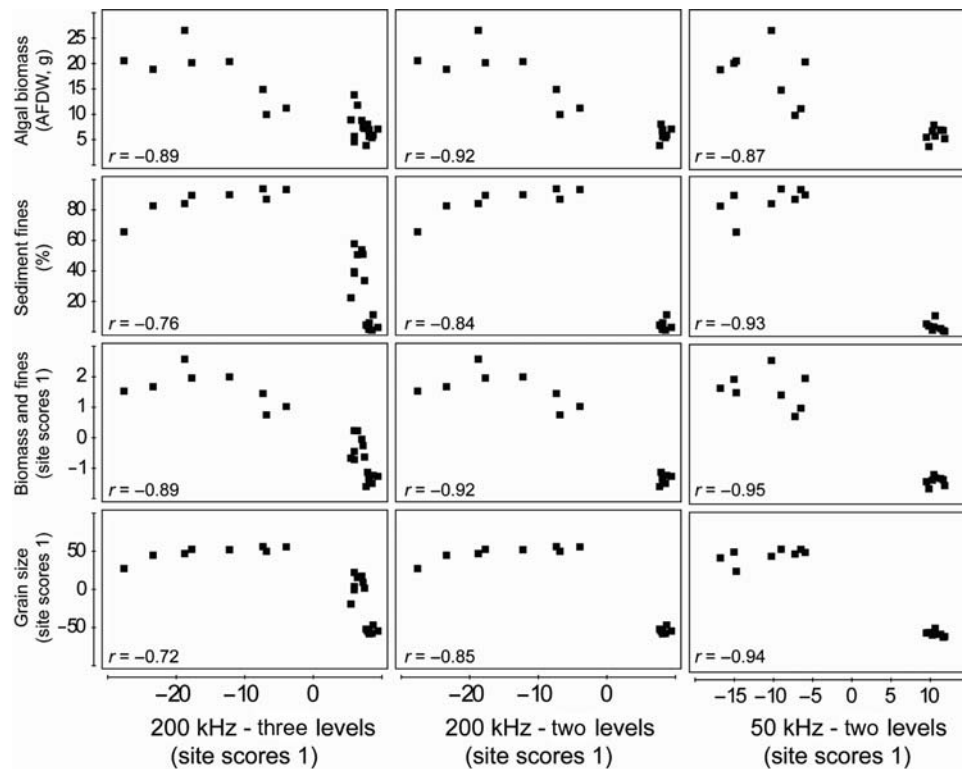


Figure 5. Relationship between the site scores on axis 1 of a PCA of acoustic data (50 and 200 kHz) and the covariates (sediment grain size, sediment-fines content, algal biomass, and algal biomass/fines content). r is the correlation coefficient.

vegetation, whatever the sedimentary characteristics of the seabed. Although the amount of data was limited, our results also indicated that it is possible to model the biomass distribution of *C. prolifera* based on an acoustic survey at 200 kHz. This modelling approach will pose major challenges in areas with lower and higher biomass values per unit seabed surface. Under a patchy distribution of the macrophytes, or a low biomass, it is in fact possible that the system will not be able to detect the vegetation and show a resolution below the actual disappearance of the macrophytes. At the other end of the scale, it would be interesting to test the capacity of the system to detect changes in a range of very high biomass levels. In either case, surveys devoted to the study of underwater vegetation should include routinely the study of the superficial-sediment grain-size characteristics, because these will significantly affect the ability of the acoustic system to sample the vegetation cover adequately.

Acknowledgements

The work was supported by the Portuguese FCT (Fundação para a Ciência e a Tecnologia) under the project “ACOSHELF: Coastal-shelf ecosystem studies using acoustics” (POCI/MAR/56441/2004 and PPCDT/MAR/56441/04), by the programme “Acções Integradas Luso-Espanholas”, under the project “ACOFAN: shallow-water acoustic mapping of seagrass meadows and other benthic biotopes” (E-97/08) and by CESAM research funds as well as those of the research group “Ecología y Ordenación de Ecosistemas Marinos Costeros”, University of Murcia. Our colleague Rui Marques helped in preparing the acoustic system and in data collection. We also thank the Puerto and Club Náutico de Lo Pagán for harbour facilities. Finally, we

acknowledge the valued comments from two anonymous reviewers.

References

- Anderson, M. J., Gorley, R. N., and Clarke, K. R. 2008. PERMANOVA+ for PRIMER: guide to software and statistical methods. University of Auckland and PRIMER-E, Plymouth. 214 pp.
- Boström, C., Jackson, E. L., and Simenstad, C. A. 2006. Seagrass landscapes and their effects on associated fauna: a review. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 68: 383–403.
- Bowden, D. A., Rowden, A. A., and Attrill, M. J. 2001. Effect of patch size and in-patch location on the infaunal macroinvertebrate assemblages of *Zostera marina* seagrass beds. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 259: 133–154.
- Brown, C. J., Cooper, K. M., Meadows, W. J., Limpenny, D. S., and Rees, H. L. 2002. Small-scale mapping of seabed assemblages in the eastern English Channel using sidescan sonar and remote sampling techniques. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 54: 263–278.
- Clarke, K. R., and Gorley, R. N. 2006. PRIMER v6: User Manual/Tutorial. PRIMER-E, Plymouth, UK. 190 pp.
- Clarke, K. R., and Warwick, R. M. 2001. Change in Marine Communities: an Approach to Statistical Analysis and Interpretation, 2nd edn. PRIMER-E, Plymouth, UK. 172 pp.
- Dekker, A. G., Brando, V. E., and Anstee, J. M. 2005. Retrospective seagrass change detection in a shallow coastal tidal Australian lake. *Remote Sensing of Environment*, 97: 415–433.
- Doeglas, D. J. 1968. Grain size indices, classification and environment. *Sedimentology*, 10: 8–82.
- Eklöf, J. S., de la Torre Castro, M., Adelsköld, L., Jiddawi, N. S., and Kautsky, N. 2005. Differences in macrofaunal and seagrass beds

- with and without seaweed farms. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 63: 385–396.
- Fish, J. P., and Carr, A. H. 1990. *Sound Underwater Images. A Guide to the Generation and Interpretation of Side Scan Sonar Data*. Lower Cape Publishing, Orleans. 189 pp.
- Fornes, A., Basterretxea, G., Orfila, A., Jordi, A., Alvarez, A., and Tintore, J. 2006. Mapping *Posidonia oceanica* from IKONOS. *ISPRS Journal of Photogrammetry and Remote Sensing*, 60: 315–322.
- Freitas, R., Rodrigues, A. M., Morris, E., Perez-Llorens, J. L., and Quintino, V. 2008. Single-beam acoustic ground discrimination of shallow water habitats: 50 kHz or 200 kHz frequency survey? *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 78: 613–622.
- Freitas, R., Rodrigues, A. M., and Quintino, V. 2003a. Benthic biotopes remote sensing using acoustics. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 285/286: 339–353.
- Freitas, R., Silva, S., Quintino, V., Rodrigues, A. M., Rhynas, K., and Collins, W. T. 2003b. Acoustic seabed classification of marine habitats: studies in the western Portuguese coastal shelf. *ICES Journal of Marine Science*, 60: 600–609.
- Hamilton, L. J., Mulhearn, P. J., and Poeckert, R. 1999. Comparison of RoxAnn and QTC-view acoustic bottom classification system performance for the Cairns area, Great Barrier Reef, Australia. *Continental Shelf Research*, 19: 1577–1597.
- Hewitt, J. E., Thrush, S. F., Legendre, P., Funnel, G. A., Ellis, J., and Morrison, M. 2004. Mapping of marine soft-sediment communities: integrated sampling for ecological interpretation. *Ecological Applications*, 14: 1203–1216.
- Hovel, K. A., and Lipcius, R. N. 2002. Effects of seagrass habitat fragmentation on juvenile blue crab survival and abundance. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 271: 75–98.
- Hutin, E., Simrad, Y., and Archambault, P. 2005. Acoustic detection of a scallop bed from a single-beam echosounder in the St Lawrence. *ICES Journal of Marine Science*, 62: 966–983.
- Irlandi, E. A., Orlando, B. A., and Ambrose, W. G. 1999. Influence of seagrass habitat patch size on growth and survival of juvenile bay scallops, *Argopecten irradians concentricus* (Say). *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 235: 21–43.
- Kenny, A. J., Cato, I., Desprez, M., Fader, G., Schüttenhelm, R. T. E., and Side, J. 2003. An overview of seabed mapping technologies in the context of marine habitat classification. *ICES Journal of Marine Science*, 60: 411–418.
- Komatsu, T., Igarashi, C., Tatsukawa, K., Sultana, S., Matsuoaka, Y., and Harada, S. 2003a. Use of multibeam sonar to map seagrass beds in Otsuchi Bay on the Sanriku Coast of Japan. *Aquatic Living Resources*, 16: 223–230.
- Komatsu, T., Mikami, A., Sultana, S., Ishida, K., Hiraishi, T., and Tatsukawa, K. 2003b. Hydro-acoustic methods as a practical tool for cartography of seagrass beds. *Otsuchi Marine Science*, 28: 72–79.
- Lefebvre, A., Thompson, C. E. L., Collins, K. J., and Amos, C. L. 2009. Use of a high-resolution profiling sonar and a towed video camera to map *Zostera marina* bed, Solent, UK. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 82: 323–334.
- Leriche, A., Pasqualini, A., Boudouresque, C., Bernard, G., Bonhomme, P., Clabaut, P., and Denis, J. 2006. Spatial, temporal and structural variations of a *Posidonia oceanica* seagrass meadow facing human activities. *Aquatic Botany*, 84: 287–293.
- López De La Rosa, I., Rodríguez, A., and García Raso, J. E. 2006. Seasonal variation and structure of a decapod (Crustacea) assemblage living in a *Caulerpa prolifera* meadow in Cádiz Bay (SW Spain). *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 66: 624–633.
- Moyer, R. P., Riegl, B., Banks, K., and Dodge, R. E. 2005. Assessing the accuracy of acoustic seabed classification for mapping coral reef environments in South Florida (Broward County, USA). *Revista de Biología Tropical*, 53: 175–184.
- Norris, J. G., Wyllie-Echeverria, S., Mumford, T., Bailey, A., and Turner, T. 1997. Estimating basal area coverage of subtidal seagrass beds using underwater videography. *Aquatic Botany*, 58: 269.
- Pasqualini, V., Pergent-Martini, C., Clabaut, P., and Pergent, G. 1998. Mapping of *Posidonia oceanica* using aerial photographs and side-scan sonar: application off the Island of Corsica (France). *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 47: 359–367.
- Pérez-Ruzafa, A., Fernández, A. I., Marcos, C., Gilabert, J., Quispe, J. I., and García-Charton, J. A. 2005. Spatial and temporal variations of hydrological conditions, nutrients and chlorophyll *a* in a Mediterranean coastal lagoon (Mar Menor, Spain). *Hydrobiologia*, 550: 11–27.
- Pérez-Ruzafa, A., García-Charton, J. A., Barcala, E., and Marcos, A. 2006. Changes in benthic fish assemblages as a consequence of coastal works in a coastal lagoon: the Mar Menor (Spain, western Mediterranean). *Marine Pollution Bulletin*, 53: 107–120.
- Pérez-Ruzafa, A., Hegazi, M. I., Pérez-Ruzafa, I. M., and Marcos, C. 2008. Differences in spatial and seasonal patterns of macrophyte assemblages between a coastal lagoon and the open sea. *Marine Environmental Research*, 65: 291–314.
- Pérez-Ruzafa, A., Marcos-Diego, C., and Ros, J. D. 1991. Environmental and biological changes related to recent human activities in the Mar Menor (SE of Spain). *Marine Pollution Bulletin*, 23: 747–751.
- Pérez-Ruzafa, A., Ros, J. D., Marcos, C., Pérez Ruzafa, I. M., and Ballester, R. 1989. Distribution and biomass of the macrophyte beds in a hypersaline coastal lagoon (the Mar Menor, SE Spain) and its recent evolution following major environmental changes. *In* International Workshop on Posidonia Beds, 2, pp. 49–62. Ed. by Ch-F. Boudouresque, A. Meinesz, E. Fresi, and V. Gravez. VGIS Posidonie Publisher, Marseille.
- Phinn, S., Roelfsema, C., Dekker, A., Brando, V., and Anstee, J. 2008. Mapping seagrass species, cover and biomass in shallow waters: an assessment of satellite multi-spectral and airborne hyper-spectral imaging systems in Moreton Bay (Australia). *Remote Sensing of Environment*, 112: 3413–3425.
- Piazzi, L., Acunto, S., and Cinelli, F. 2000. Mapping of *Posidonia oceanica* beds around Elba Island (western Mediterranean) with integration of direct and indirect methods. *Oceanologica Acta*, 23: 339–346.
- Preston, J., Inouchi, Y., and Shioya, F. 2006. Acoustic classification of submerged aquatic vegetation. *In* Proceedings of the Eighth European Conference on Underwater Acoustics, ECUA 2006. Ed. by S. M. Jesus, and O. C. Rodríguez. CINTAL, Carvoeiro, Portugal. 6 pp.
- Quintino, V., Rodrigues, A. M., and Gentil, F. 1989. Assessment of macrozoobenthic communities in the lagoon of Óbidos, western coast of Portugal. *Scientia Marina*, 53: 645–654.
- Riegl, B. M., Moyer, R. P., Morris, L. J., Virnstein, R. W., and Purkis, S. J. 2005. Distribution and seasonal biomass of drift macroalgae in the Indian River Lagoon (Florida, USA) estimated with acoustic seafloor classification (QTCView, Echoplus). *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 326: 89–104.
- Riegl, B. M., and Purkis, S. J. 2005. Detection of shallow subtidal corals from IKONOS satellite and QTC View (50, 200 kHz) single-beam sonar data (Arabian Gulf; Dubai, UAE). *Remote Sensing of Environment*, 95: 96–114.
- Rueda, J. L., and Salas, C. 2003. Seasonal variation of a molluscan assemblage living in a *Caulerpa prolifera* meadow within the inner Bay of Cádiz (SW Spain). *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 57: 909–918.
- Sánchez-Moyano, J. E., Estacio, F. J., García-Adiego, E. M., and García-Gómez, J. C. 2001. Effect of the vegetative cycle of *Caulerpa prolifera* on the spatio-temporal variation of invertebrate macrofauna. *Aquatic Botany*, 70: 163–174.
- Sfriso, A., Birkemeyer, T., and Ghetti, P. F. 2001. Benthic macrofauna changes in areas of Venice lagoon populated by seagrass or seaweeds. *Marine Environmental Research*, 52: 323–349.

- Siljeström, P. A., Rey, J., and Moreno, A. 1996. Characterization of phanerogam communities (*Posidonia oceanica* and *Cymodocea nodosa*) using side-scan-sonar images. *ISPRS Journal of Photogrammetry and Remote Sensing*, 51: 308–315.
- Unsworth, R. K. F., de Grave, S., Jompa, J., Smith, D. J., and Bell, J. J. 2007. Faunal relationship with seagrass habitat structure: a case study using shrimp from the Indo-Pacific. *Marine and Freshwater Research*, 58: 1008–1018.
- Whitfield, A. K. 1989. The benthic invertebrate community of a Southern Cape estuary: structure and possible food sources. *Transactions of the Royal Society of South Africa*, 47: 159–179.
- Wienberg, C., and Bartholomä, A. 2005. Acoustic seabed classification in a coastal environment (outer Weser estuary, German Bight)—a new approach to monitor dredging and dredge spoil disposal. *Continental Shelf Science*, 25: 1143–1156.

doi:10.1093/icesjms/fsp251